



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**Evaluación fisicoquímica y toxicológica de un sistema  
acoplado de electrooxidación – ozonación para la  
remoción de Thiodan® en agua.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTORA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**P R E S E N T A**

**CLAUDIA ROSALES LANDEROS**

**DIRIGIDA POR**

**Dr. Carlos Eduardo Barrera Díaz**

**Dra. Araceli Amaya Chávez**

**Dra. Gabriela Roa Morales**

Toluca, Estado de México. 9 de marzo del 2018





Universidad Autónoma del Estado de México  
Facultad de Química

Oficio No. 055/2018

Toluca, México, 20 de febrero de 2018

**SEÑORES PROFESORES MIEMBROS DEL  
JURADO DE LA EVALUACIÓN DE GRADO  
CLAUDIA ROSALES LANDEROS  
P R E S E N T E**

El que suscribe Director de la Facultad de Química, dependiente de la Universidad Autónoma del Estado de México, comunica a Usted que se fijó como **FECHA de la EVALUACIÓN DE GRADO**, el próximo **viernes 09 de marzo de 2018, a las 18:00 hrs.**, en el **Auditorio** de la Facultad de Química, por lo que se les solicita su puntual asistencia.

	FIRMA
Dra. Araceli Amaya Chávez <b>PRESIDENTE</b>	
Dra. Patricia Balderas Hernández <b>SECRETARIO</b>	
Dr. Carlos Eduardo Barrera Díaz <b>PRIMER VOCAL</b>	
Dra. Gabriela Roa Morales <b>SEGUNDO VOCAL</b>	
Dr. Fernando Ureña Núñez <b>TERCER VOCAL</b>	
Dr. Moisés Tejocote Pérez <b>SUPLENTE</b>	
Dra. Claudia Teodora Cano Rodríguez <b>SUPLENTE</b>	

**ATENTAMENTE**  
**PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO**  
"2018, Año del 190 aniversario de la Universidad Autónoma del Estado de México"

**DR. ERICK CUEVAS YAÑEZ**  
**DIRECTOR**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**



**U.A.E.M.**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**  
**DIRECCIÓN**

Facultad de Química de la UAEM,  
Paseo Colón Esc/ Paseo Toluca,  
Col. Residencial Colón. C.P. 50120  
Toluca, Estado de México  
Tel. (722) 2575100 / 2573890  
fqum@uaemex.mx



ESTE TRABAJO SE DESARROLLO EN LA FACULTAD DE QUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO, DENTRO DEL PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES, EN EL ÁREA DE CALIDAD AMBIENTAL, EN LA LINEA DE PREVENCIÓN, CONTROL Y EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN; EN LAS INSTALACIONES DEL CENTRO CONJUNTO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA SUSTENTABLE (CCIQS) UAEM-UNAM EN EL LABORATORIO DE QUÍMICA AMBIENTAL Y EN EL LABORATORIO 7 DE LA FACULTAD DE QUÍMICA.

AGRADEZCO A LAS AUTORIDADES DE AMBAS INSTITUCIONES POR LAS FACILIDADES BRINDADAS, ASÍ COMO AL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT) POR EL APOYO ECONÓMICO DE LA BECA NÚMERO 273623.

EL PRESENTE TRABAJO FUE REGISTRADO CON EL TÍTULO **EVALUACIÓN FISICOQUÍMICA Y TOXICOLÓGICA DE UN SISTEMA ACOPLADO DE ELECTROOXIDACIÓN – OZONACIÓN PARA LA REMOCIÓN DE THIODAN® EN AGUA**, ANTE LA SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS AVANZADOS DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO CON EL NÚMERO **DCAAM-0915**.

## AGRADECIMIENTOS

A mis asesores de tesis Dr. Carlos Eduardo Barrera Díaz, Dra. Araceli Amaya Chávez y Dra. Gabriela Roa Morales, por la dirección de este trabajo, por el apoyo brindado, su confianza y por contribuir en mi crecimiento personal y profesional.

Al Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable (CCIQS) UAEM- UNAM y Laboratorio 7 de la Facultad de Química por las facilidades brindadas para esta investigación.

Al Centro Interamericano de Recursos del Agua, a la MCA Ana Elisa Alcántara Valladolid por facilitar el equipo necesario para llevar a cabo la prueba de MICROTOX.

Al laboratorio de Ingeniería Química del CCIQS, a la Dra. Reyna Natividad por las facilidades para realizar las pruebas de COT y CI.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico brindado a través de la beca número 273623 para realizar mis estudios de doctorado.

A mis compañeros y amigos del laboratorio, en especial a Lupita, Deysi, Cristy, Gris, Jazmín, Miguel y Paco que hicieron más agradable el tiempo dedicado a este proyecto con su alegría y compañerismo.

A mis padres, a mi hermano, mi cuñada, mis sobrinos, a la Familia Carrillo Landeros que les adeudo el tiempo, el apoyo, la motivación, el gran ejemplo y la paciencia que me han brindado a lo largo de esta vida.

A Dios por darme salud y los medios necesarios para lograr mis objetivos.

# Índice

ABREVIATURAS.....	1
RESUMEN .....	3
ABSTRACT.....	4
<b>Capítulo 1. Marco Referencial .....</b>	<b>5</b>
1.1 Contaminación del agua.....	6
1.2 Plaguicidas .....	7
1.3 Riesgos ambientales por el uso de plaguicidas .....	8
1.4 Propiedades Físico-químicas de los plaguicidas.....	10
1.5 Clasificación de los plaguicidas.....	11
1.5.1 Endosulfán.....	12
1.6 Tratamientos de aguas residuales .....	18
1.6.1 Procesos Avanzados de Oxidación .....	20
1.6.2 Fitorremediación .....	40
1.7 Biomarcadores .....	49
1.7.1 Pigmentos Fotosintéticos.....	51
1.7.2 Estrés oxidativo.....	53
1.8 Bioensayos .....	56
<b>Capítulo 2. Justificación, Hipótesis y Objetivos .....</b>	<b>57</b>
2.1 Justificación .....	58
2.2 Hipótesis .....	59
2.3 Objetivo General.....	59
2.4 Objetivos específicos .....	59
<b>Capítulo 3. Metodología.....</b>	<b>60</b>
3.1 Solución de Endosulfán grado comercial Thiodan®.....	62
3.2 Reactor de electrooxidación.....	62
3.3 Reactor de ozonación.....	63
3.4 Proceso acoplado de electrooxidación- ozonación (EO-O <sub>3</sub> ).....	63

3.5 Selección, colecta y aclimatación de la planta <i>Myriophyllum aquaticum</i> . .....	64
3.6 Tolerancia de <i>Myriophyllum aquaticum</i> a la solución tratada de Thiodan®.....	64
3.7 Efecto del tiempo de reposo de la solución tratada de Thiodan® en <i>Myriophyllum aquaticum</i> .....	65
3.8 Efecto de las especies generadas durante el proceso acoplado EO-O <sub>3</sub> en <i>Myriophyllum aquaticum</i> . .....	65
3.9 Técnicas analíticas. ....	66
3.10 Biomarcadores de estrés oxidativo .....	70
3.11 Bioensayos con <i>Lactuca sativa L.</i> .....	72
3.12 Análisis Estadístico.....	72
<b>Capítulo 4. Resultados y Discusión .....</b>	<b>73</b>
4.1 Artículo publicado .....	75
4.2 Artículo enviado .....	83
4.3 Resultados no publicados.....	115
<b>Capítulo 5. Discusión General .....</b>	<b>117</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>117</b>
<b>Referencias .....</b>	<b>117</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>117</b>

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Normas Oficiales Mexicanas que regulan las descargas de aguas residuales. ....	6
<b>Tabla 2.</b> Clasificación de los plaguicidas. ....	11
<b>Tabla 3.</b> Propiedades Fisicoquímicas de $\alpha$ y $\beta$ endosulfán y del sulfato de endosulfán. ....	14
<b>Tabla 4.</b> Potencial de formación de algunos agentes.....	21
<b>Tabla 5.</b> Potencial para la evolución de O <sub>2</sub> de varios materiales anódicos.....	28
<b>Tabla 6.</b> Aplicación de la oxidación electroquímica con ánodos de DDB. ....	34
<b>Tabla 7.</b> Propiedades fisicoquímicas del Ozono.....	35
<b>Tabla 8.</b> Taxonomía y nomenclatura de <i>Myriophyllum aquaticum</i> . ....	47
<b>Tabla 9.</b> Costo del proceso de electrooxidación. ....	116

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Distribución de los plaguicidas en el ambiente. (Elaboración propia). .....	9
<b>Figura 2.</b> Estructura química del endosulfán. (Fuente: elaboración propia, ChemBiodraw) .....	12
<b>Figura 3.</b> Síntesis comercial de endosulfán. (Fuente: elaboración propia, ChemBiodraw).13	
<b>Figura 4.</b> Tren de tratamiento de aguas residuales. Fuente: [49] .....	19
<b>Figura 5.</b> Formación del radical hidroxilo por descomposición de la molécula del agua. (Fuente: imagen modificada <sup>[59-60]</sup> ).....	22
<b>Figura 6.</b> Clasificación de los Procesos de Oxidación Avanzada <sup>[65]</sup> .....	23
<b>Figura 7.</b> Esquema de los procesos de electroquímicos en el ánodo y cátodo con los electrodos DDB. (Fuente: imagen modificada [97, 98].....	33
<b>Figura 8.</b> Resonancia de la estructura de ozono. (Fuente: [113]). .....	36
<b>Figura 9.</b> Factores que afectan el proceso de Fitorremediación. (Fuente: [132]). .....	41
<b>Figura 10.</b> Mecanismos de Fitorremediación. (Fuente: Modificada de [141]). .....	43
<b>Figura 11.</b> Plantas acuáticas. (Fuente: [145]). .....	46
<b>Figura 12.</b> a) Planta <i>M. aquaticum</i> completa, b) planta vista aérea, c) hojas, d) crecimiento axilar flores y f) flor. (Fuente: elaboración propia). .....	48
<b>Figura 13.</b> Estructura de Clorofilas. (Fuente: [178]). .....	52
<b>Figura 14.</b> Reducción del O <sub>2</sub> . (Fuente: [192]). .....	54
<b>Figura 15.</b> Sistema de defensa en las plantas. (Fuente: [192]). .....	56
<b>Figura 16.</b> Diagrama de flujo de la estrategia experimental.....	61
<b>Figura 17.</b> a) Vista de frente y b) vista lateral de los electrodos de Diamante Dopados con Boro. ....	62
<b>Figura 18.</b> Generador de ozono marca Pacific Ozone Technology. ....	63
<b>Figura 19.</b> Esquema del proceso acoplado de electrooxidación – ozonación. ....	64
<b>Figura 20.</b> <i>Myriophyllum aquaticum</i> a) hábitat natural b) proceso de aclimatación laboratorio.....	64
<b>Figura 21.</b> Consumo de energía a densidades de corriente de 20 (◆), 40(■) y 60 (▲) mAcm <sup>-2</sup> .....	115



## ABREVIATURAS

<b>Abs</b>	Absorbancia
<b>AChE</b>	Acetilcolinesterasa
<b>Ag/AgCl</b>	Electrodo de plata/cloruro de plata
<b>C</b>	Concentración
<b>°C</b>	Grados Celsius
<b>CAT</b>	Catalasa
<b>CE<sub>50</sub></b>	Concentración Efectiva 50
<b>cm</b>	centímetros
<b>COFEPRIS</b>	Comisión Federal de Protección contra Riesgos Sanitarios
<b>COP</b>	Compuesto Orgánico Persistente
<b>COT</b>	Carbono Orgánico Total
<b>DE</b>	Desviación Estándar
<b>DL<sub>50</sub></b>	Dosis Letal 50
<b>E</b>	Potencial (V)
<b>EO</b>	Electrooxidación
<b>ERO</b>	Especies Reactivas de Oxígeno
<b>j</b>	Densidad de corriente aplicada
<b>Kg</b>	Kilogramos
<b>K<sub>ow</sub></b>	Coefficiente de partición octanol – agua
<b>K<sub>oa</sub></b>	Coefficiente de partición octanol – aire
<b>K<sub>oc</sub></b>	Coefficiente de partición octanol – carbono
<b>L</b>	Litros
<b>Ln</b>	Logaritmo natural

$\lambda$	Longitud de onda
<b>M</b>	Molaridad
<b>mA</b>	miliamperios
<b>mg</b>	miligramos
$\mu\text{g}$	microgramos
$\mu\text{L}$	microlitros
<b>min</b>	minutos
<b>mm</b>	milímetros
<b>nm</b>	nanómetros
<b>NOM</b>	Norma Oficial Mexicana
<b>PAOs</b>	Procesos Avanzados de Oxidación
$r^2$	Coefficiente de correlación
<b>s</b>	segundos
<b>SCE</b>	Electrodo Estándar de Calomel (siglas en inglés)
<b>SOD</b>	Superóxido dismutasa
<b>UV- Vis</b>	Espectrofotometría UV-Visible
<b>t</b>	tiempo
<b>TCR</b>	Tasa de Crecimiento Relativo
<b>V</b>	Volts

## RESUMEN

Esta investigación muestra los resultados de la sinergia de un proceso acoplado donde interviene la electrooxidación y la ozonación para la degradación del plaguicida Thiodan® en agua, ambos tratamientos se encuentran clasificados como procesos avanzados de oxidación. Los procesos evaluados de manera individual mostraron porcentajes de remoción de 97% de DQO para el proceso de electrooxidación con electrodos de diamante dopados con boro y en el caso de la ozonación solo se removió el 77% de DQO en un tiempo de reacción de 100 min, la cinética de degradación de ambos procesos fue descrita por un modelo de pseudo-primer orden. Por otro lado, cuando los procesos fueron acoplados, la remoción de DQO fue de 95% y el COT disminuyó un 94% con solo 40 min de reacción. Con el proceso acoplado prácticamente se eliminó la DQO y el COT de la solución de Thiodan®. Al realizar la prueba de toxicidad con MICROTOX® se observó que después de 30 minutos de reacción, la muestra ya no presentaba toxicidad y los voltamperogramas cíclicos indicaron la oxidación de Thiodan®. Los efectos tóxicos del tratamiento de electrooxidación-ozonación también fueron evaluados en *Myriophyllum aquaticum*, para lo cual, el tiempo de reacción de tratamiento acoplado fue únicamente de 20 min ya que fue exitoso en la remoción de compuestos orgánicos, sin embargo, *Myriophyllum aquaticum* no fue capaz de tolerar la solución mostrando efectos letales a altas concentraciones de la solución de Thiodan® tratada, el efecto fue atribuido a las especies reactivas generadas en los procesos avanzados de oxidación, por lo que se evaluó el tiempo de reposo requerido para estabilizar estas especies, después de dejar reposar la solución tratada por 48 h no se observaron efectos tóxicos en *Myriophyllum aquaticum*. Cabe señalar que también fueron evaluadas soluciones del electrolito soporte con y sin tratamiento acoplado de electrooxidación –ozonación, observando que la solución del electrolito soporte con tratamiento también genera efectos tóxicos en la planta. En las plantas expuestas a solución de Thiodan® tratadas con 0 y 24 h de tiempo de reposo, los mecanismos de protección antioxidante fueron activos. Para la evaluación de la solución de Thiodan® tratada con el proceso de EO-O<sub>3</sub> antes y después del contacto con *Myriophyllum aquaticu*, se evaluó la toxicidad en semillas de *Lactuca sativa* L. observando que después del contacto con la planta, la solución ya no generó efectos inhibitorios en el crecimiento de la elongación de las semillas expuestas.

## ABSTRACT

This research shows the results of the synergy of a coupled process where electrooxidation and ozonation intervene for the degradation of the Thiodan® pesticide in water, both treatments are classified as advanced oxidation processes. The processes evaluated individually showed removal percentages of 97% COD for the electrooxidation process with boron doped diamond electrodes and in the case of ozonation only 77% of COD was removed in a reaction time of 100 min, the degradation kinetics of both processes was described by a pseudo-first order model. On the other hand, when the processes were coupled, the COD removal was 95% and the TOC decreased 94% with only 40 min of reaction. With the coupled process, the COD and TOC of the Thiodan® solution were practically eliminated. When performing the toxicity test with MICROTOX®, it was observed that after 30 minutes of reaction, the sample no longer showed toxicity and the cyclic voltammograms obtained indicated the oxidation of Thiodan®. The toxic effects of the electrooxidation-ozonation treatment were also evaluated in *Myriophyllum aquaticum*, with a treatment reaction time was only 20 minutes since it was successful in the removal of organic compounds, nonetheless, *Myriophyllum aquaticum* was not able to tolerate the solution showing lethal effects at high concentrations of Thiodan® solutions treated, this effect was attributed to the reactive species generated in the advanced oxidation processes, so that, the resting time required to stabilize these species was evaluated, after 48 h no toxic effects were observed in *Myriophyllum aquaticum*. It should be noted, that solutions of the support electrolyte were also evaluated with and without electrooxidation - ozonation coupled treatment, observing that the solution of the electrolyte support with treatment also generated toxic effects in the plant. The plants exposed to Thiodan® solution treated with 0 and 24 h of rest time, showed the activation of antioxidant protection mechanisms. For the evaluation of the Thiodan® solution treated with the EO-O<sub>3</sub> process before and after contact with *Myriophyllum aquaticum*, the toxicity in seeds of *Lactuca sativa* L. was evaluated observing that after contact with the plant, the solution no longer generated inhibitory effects on the growth of the elongation of the exposed seeds.



# Capítulo 1. Marco Referencial

## 1.1 Contaminación del agua

Una de las más importantes sustancias para el mantenimiento de la vida es el agua, debido a su funcionalidad biológica, es base para el desarrollo económico y comercial. En las últimas décadas la disponibilidad del agua ha disminuido por el crecimiento poblacional y la industrialización, la poca disponibilidad no es física si no que es consecuencia de la disminución en su calidad debido a la presencia de microorganismos procedentes de aguas municipales, sustancias químicas que están presentes en las aguas residuales industriales, fertilizantes y plaguicidas por escorrentías, infiltración, erosión de los suelos donde son aplicados y por transporte aéreo <sup>[1,2]</sup>.

Para tratar de minimizar esta problemática, en México se ha generado un marco normativo para regular las descargas de aguas residuales, en la tabla 1 se enlistan las normas.

**Tabla 1.** Normas Oficiales Mexicanas que regulan las descargas de aguas residuales.

Norma Oficial Mexicana	Establece
<b>NOM-001-Semarnat-1996. Publicada el 6 de enero de 1997.</b>	Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas o bienes nacionales <sup>[3]</sup> .
<b>NOM-002-Semarnat-1996. Publicada el 3 de junio de 1998.</b>	Límites máximos permisibles de contaminantes en la descarga de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal <sup>[4]</sup> .
<b>NOM-003-Semarnat-1997. Publicada el 21 de septiembre de 1998.</b>	Límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios públicos <sup>[5]</sup> .
<b>NOM-004-Semarnat-2001. Publicada el 15 de agosto de 2003.</b>	Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes en lodos y biosólidos para su aprovechamiento y disposición final <sup>[6]</sup> .

En México, cerca del 76.3 % del agua es utilizada en la agricultura, 14.6 % en abasto público, 4.3 % en la industria y 4.8 % en la energía eléctrica <sup>[7]</sup>. La actividad agrícola es la de mayor demanda, convirtiéndose en elemento clave en zonas donde este recurso es escaso <sup>[8]</sup>, también es considerada como factor principal de los recursos hídricos superficiales y subterráneos como consecuencia de la erosión y de la escorrentía química <sup>[9]</sup>. La superficie agrícola varía entre 20 y 25 millones de hectáreas, en las cuales son utilizadas en promedio

35,000 toneladas de plaguicidas por año. Durante el primer semestre de 2010 se elaboraron 58,451 toneladas de plaguicidas de uso agrícola, entre estos plaguicidas los más utilizados son del grupo de los organofosforados, carbamatos, piretroides y organoclorados <sup>[10, 11]</sup>.

## 1.2 Plaguicidas

El término plaguicida se aplica a toda sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir, repeler o controlar una plaga. Se pueden clasificar de acuerdo a su uso, composición química, naturaleza química, acción específica, concentración, formulación, modo de acción, grado de toxicidad y persistencia en el ambiente <sup>[12]</sup>.

Estas sustancias representan un riesgo para la salud humana y al ambiente debido a que pueden contaminar suelos, agua, sedimentos y aire. Los plaguicidas llegan a cuerpos de agua por escurrimiento, infiltración y erosión de los suelos, en lugares donde se han aplicado. También pueden movilizarse por transporte aéreo o por escurrimiento durante lluvias o riego agrícola y, de esta manera, pueden transportarse hacia cuerpos de agua, tanto superficiales como subterráneos hasta contaminar agua y sedimentos <sup>[13]</sup>.

Se reconoce que son sustancias químicamente complejas, que una vez aplicadas en el ambiente, están sujetas a una serie de transformaciones a nivel físico, químico y biológico (fenómenos de adsorción y absorción sobre suelos y plantas, volatilización, fotólisis y degradación química o microbiana). Además también pueden ser arrastrados por las corrientes de aire y agua que permiten su transporte a grandes distancias; hay que añadir que los residuos volátiles pasan a la atmósfera y regresan con la lluvia a otros lugares. Estas transformaciones pueden conducir a la generación de fracciones o a la degradación total de los compuestos que en sus diversas formas pueden llegar a afectar a los diferentes niveles de un ecosistema <sup>[14]</sup>.

El desarrollo de plaguicidas químicos ha tenido un profundo efecto en la eterna batalla del hombre contra las plagas de la agricultura. En la mayoría de los casos, han sido incorporados a un programa sistemático de control de plagas, tratando de no causar ningún daño a los seres humanos o al ambiente. Sin embargo los plaguicidas químicos no

constituyen un remedio para controlar cualquier tipo de plaga, su abuso puede ser caro, provocar graves daños a los ecosistemas y comprometer la salud humana <sup>[15]</sup>.

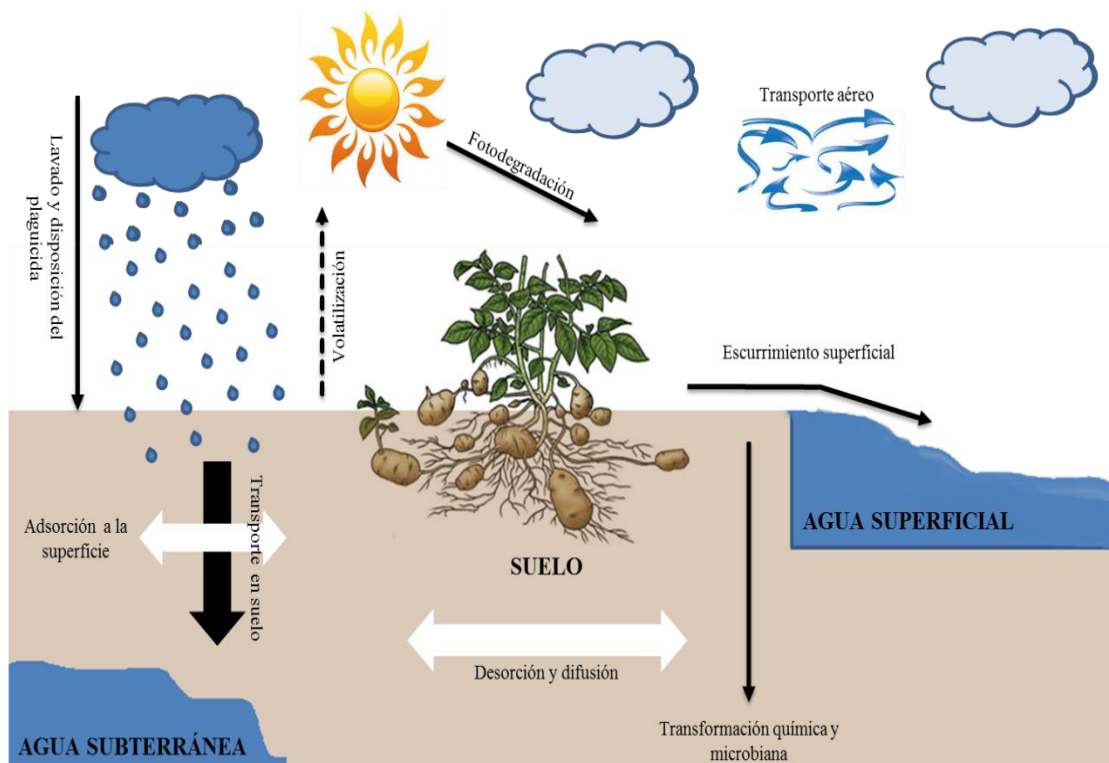
El uso generalizado de tales productos se debe a las propiedades biocidas y de selectividad que poseen; por ello, constituyen el método habitual de lucha contra las plagas. Estos insumos son esenciales en la agricultura moderna para controlar las plagas, enfermedades e incrementar la productividad de los cultivos. También en el control de plagas que causan daño durante el almacenamiento o transporte de los alimentos u otros bienes materiales <sup>[16]</sup>. El empleo de plaguicidas se debe llevar a cabo bajo normas de inocuidad que establecen límites máximos permisibles y cuyo objetivo es minimizar el riesgo a corto y mediano plazo en los consumidores. Sin embargo, en algunos casos las concentraciones de los plaguicidas rebasan los límites establecidos o usan mezclas de varios productos que aun estando en concentraciones por debajo de los límites establecidos pueden generar un efecto aditivo e incrementar el riesgo potencial <sup>[17]</sup>.

### **1.3 Riesgos ambientales por el uso de plaguicidas**

El excesivo uso de los plaguicidas en la agricultura representa una amenaza grave para el equilibrio ecológico, de manera particular para los ecosistemas acuáticos y terrestres aledaños a las áreas de cultivo. Después de ser aplicados a los cultivos, el plaguicida cae directamente y se acumula en el suelo y cuerpos de agua aledaños a la zona de cultivos. El plaguicida remanente en el suelo provoca pérdida de biodiversidad, lo cual deteriora su calidad productiva, ya que se mueren los microorganismos <sup>[18]</sup>.

Cuando un plaguicida es aplicado a un cultivo agrícola, aproximadamente el 1% del compuesto químico alcanza al organismo blanco, mientras que el 99% restante es retenido en el follaje o se dispersa en el ambiente por volatilización, escorrentía y lixiviación <sup>[19]</sup> como se muestra en la figura 1.





**Figura 1.** Distribución de los plaguicidas en el ambiente. (Elaboración propia).

Según su composición química, los plaguicidas pueden permanecer en el ambiente (persistencia), acumularse en un organismo e incluso aumentar su concentración en función del tiempo (bioacumulación) y a lo largo de la cadena trófica (biomagnificación). Los plaguicidas más persistentes y con mayor potencial de bioacumulación y magnificación son los organoclorados, como el DDT, el cual puede permanecer en el medio ambiente hasta 60 años. Cuando un plaguicida se degrada, puede resultar en la liberación de metabolitos que pueden ser incluso más tóxicos que la propia sustancia activa del plaguicida. Por ejemplo, aunque el fungicida carbámico mancozeb ha sido considerado relativamente inofensivo, durante su degradación se libera el metabolito ETU (etilentiourea), el cual posee actividad teratogénica, carcinogénica y mutagénica. Todas estas características de los plaguicidas provocan alteraciones ecológicas que pueden perdurar varios años <sup>[20]</sup>.

Desafortunadamente, los sistemas acuáticos y terrestres son los más amenazados por el aporte de sustancias contaminantes como plaguicidas, fertilizantes, metales pesados, organismos patógenos y otros, a través del incremento de actividades antropogénicas en las áreas adyacentes que alteran las condiciones naturales de los ecosistemas <sup>[14]</sup>. El excesivo

uso de los plaguicidas en la agricultura representa una amenaza grave para el equilibrio ecológico, de manera particular para los ecosistemas acuáticos y terrestres aledaños a las áreas de cultivo <sup>[18]</sup>.

#### **1.4 Propiedades Físico-químicas de los plaguicidas**

Las propiedades físico-químicas de los plaguicidas son muy importantes para conocer su dinámica ambiental, las propiedades que tienen mayor importancia son:

**Solubilidad en agua:** Capacidad que tiene el soluto para mezclarse en el solvente de manera homogénea, compuestos con una solubilidad mayor a  $500 \text{ mgL}^{-1}$  son muy móviles en suelos y su mayor concentración se encuentran en sistemas acuáticos, aquellos compuestos cuya solubilidad es menor a  $25 \text{ mgL}^{-1}$  tienden a inmovilizarse en los suelos y en organismos vivos <sup>[21]</sup>.

**Coefficiente de partición octanol-agua:** Proporciona información sobre la solubilidad y distribución de una sustancia en un organismo vivo, muestra cuanto de una sustancia se disuelve en agua y cuánto en compuesto orgánico. Aquellos compuestos que tienen coeficientes de partición  $>1$  son liposolubles por lo que se absorben fácilmente a través de las membranas biológicas y se acumulan en el tejido graso <sup>[21]</sup>.

**Presión de vapor:** Determina su volatilidad, las sustancias con presión de vapor mayores a  $10^{-3} \text{ mm de Hg}$  a  $25^\circ\text{C}$ , tienen gran movilidad y se esparcen hacia la atmósfera, las sustancias con valores de presión de vapor menores a  $10^{-7} \text{ mm de Hg}$  son más persistentes en suelo y agua, son no volátiles; los compuestos con una presión de vapor entre  $10^{-4}$  y  $10^{-6}$  son ligeramente volátiles <sup>[22]</sup>.

**Constante de Henry:** Describe la tendencia de un compuesto a volatilizarse, se calcula usando la presión de vapor, solubilidad del agua y peso molecular del compuesto. Un valor alto de la Constante de Henry indica que el compuesto tiene un potencial de volatilización elevado <sup>[22]</sup>.

**Constante de disociación:** Las sustancias al solubilizarse se pueden o no disociar. Las que no se disocian son sustancias no iónicas, las que se disocian son sustancias iónicas, las cuales pueden tener carga positiva (catiónicas) o bien cargas negativas (aniónicas). Los

plaguicidas aniónicos y los no iónicos son móviles en los suelos, en tanto los catiónicos son absorbidos, inmovilizándose en ellos [23].

**Coefficiente de partición octanol-aire:** Indica la posible bioacumulación de la sustancia en las plantas a partir del aire [23].

**Coefficiente de partición octanol- carbono:** Es una medida de tendencia de un compuesto orgánico para que sea adsorbido por suelos y sedimentos [22].

**Tiempo de vida media:** Tiempo necesario para que la concentración de un compuesto disminuya al 50% [23].

### 1.5 Clasificación de los plaguicidas

Los plaguicidas se pueden clasificar de diferentes maneras, las cuales son mencionadas en la tabla 2.

**Tabla 2.** Clasificación de los plaguicidas.

criterio	Clasificación
<b>Origen</b>	Naturales y Sintéticos
<b>Organismo que controlan</b>	Insecticidas, Herbicidas, Fungicidas, Bactericidas, Molusquicidas, Aracnicidas, Rodenticidas.
<b>Uso al que se destinan</b>	Agrícola, Forestales, Urbanos, Jardinería, Pecuarios, Domésticos, Industriales
<b>Modo de acción</b>	Contacto, Ingestión, Sistémico, Fumigante, Repelente, Defoliante.
<b>Toxicidad aguda (según DL<sub>50</sub> para rata, vía oral)</b>	Extremada, Alta, Moderada, Ligera.
<b>Efecto</b>	Corto plazo, Mediano plazo, Largo Plazo.
<b>Persistencia</b>	Baja (0-12 semanas), Moderada (1-18 meses), Alta (hasta 20 años), Permanentes (más de 20 años)
<b>Composición química</b>	Organoclorados, Organofosforados, Carbámicos, Triazínicos, Fenoxiacéticos, Bipiridílicos, Pirotróides, Ditiocarbámicos, Inorgánicos, Ftalimidicos, Sulfonamidas, Bencimidazoles.

Fuente: [23, 24]

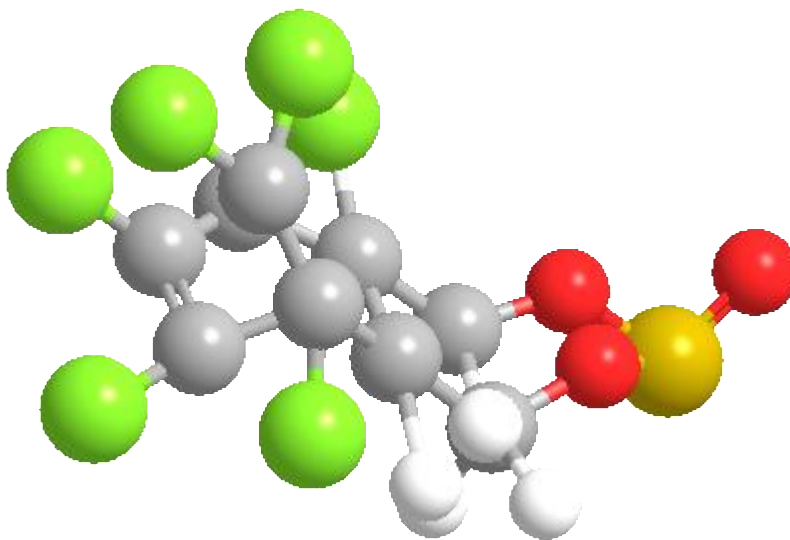
#### Plaguicidas organoclorados

Los plaguicidas organoclorados son aquellos compuestos orgánicos que tienen varios sustituyentes de cloro, han sido utilizados ampliamente en la agricultura y en sector salud como insecticidas y biosidas. En los ecosistemas acuáticos, estos compuestos se encuentran

biodisponibles para los organismos y se transfieren por la cadena alimenticia, se consideran compuestos orgánicos persistentes por su resistencia a la degradación en el ambiente, además de su potencial de bioacumulación y sus efectos negativos en el ser humano y otros animales. Bajas concentraciones de estos compuestos pueden tener efectos adversos en los seres vivos. Los plaguicidas más representativos de este tipo de compuestos son: DDT, aldrín, dieldrín, endrín, heptacloro, endosulfán, entre otros <sup>[25-28]</sup>.

### 1.5.1 Endosulfán

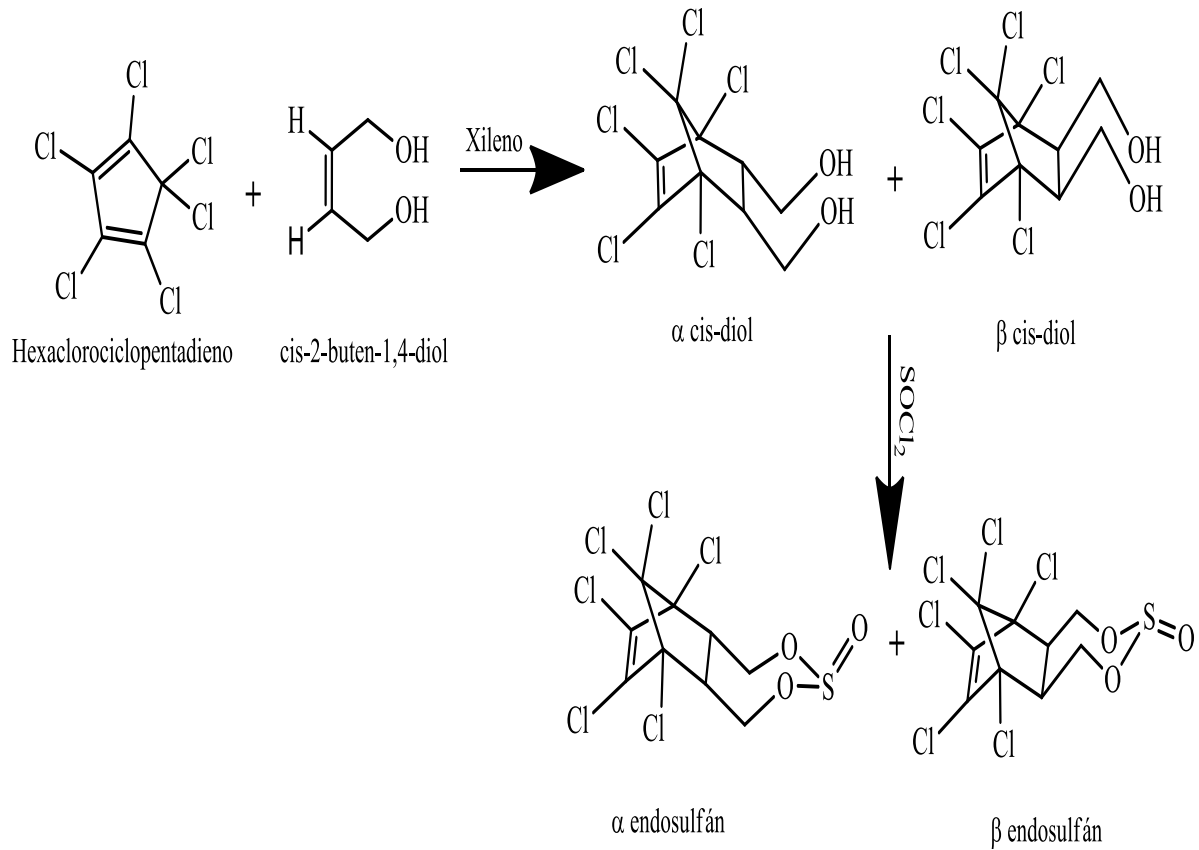
El endosulfán (6,7,8,9,10,10-hexacloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahidro-6,9-metano-2,3,4-benzodioxathiepin-3-oxido) (Figura 2) es un insecticida organoclorado que tiene una estructura de ciclodieno y posee un amplio espectro de actividad, ha sido utilizado desde la década de los 50's, en una gran variedad de cultivos entre los cuales se encuentran el brócoli, papa, café, algodón, cereales, pepino y algunas flores de ornato para atacar plagas como los escarabajos, mosca tsé-tsé, gusanos de fruta, larvas de polilla, mosca blanca, entre otros, en los lugares como la Unión Europea, India, Canadá, Estados Unidos de América, México y Centroamérica <sup>[29-31]</sup>.



**Figura 2.** Estructura química del endosulfán. (Fuente: elaboración propia, ChemBiodraw)

La síntesis del endosulfán se realiza en dos etapas (1) la reacción de Diels-Alder del hexaclorociclopentadieno con cis-2-buten-1,4-diol en xileno dando lugar a la mezcla de los dos estereoisómeros  $\alpha$  y  $\beta$  del respectivo aducto cis-diol; (2) la reacción de la mezcla

estereoisomérica del cis-diol resultante con cloruro de tionilo para formar el producto final (Figura 3) <sup>[33]</sup>.



**Figura 3.** Síntesis comercial de endosulfán. (Fuente: elaboración propia, ChemBiodraw).

El endosulfán grado comercial es una mezcla de los isómeros  $\alpha$  y  $\beta$  endosulfán, en una relación 7:3, respectivamente. Su principal producto de degradación es el sulfato de endosulfán, el cual tiene propiedades similares a los compuestos de origen <sup>[32]</sup>.

Las propiedades fisicoquímicas de los isómeros y del sulfato de endosulfán se muestran en la tabla 3 [31, 34, 35].

**Tabla 3.** Propiedades Fisicoquímicas de  $\alpha$  y  $\beta$  endosulfán y del sulfato de endosulfán.

Propiedades	$\alpha$ - endosulfán	$\beta$ - endosulfán	Sulfato de Endosulfán
<b>Solubilidad pH 5, 25°C, mgL<sup>-1</sup></b>	0.33	0.32	0.22
<b>Constante Henry atm m<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup>. 25°C</b>	1x10 <sup>-5</sup>	1.91x10 <sup>-5</sup>	2.61x10 <sup>-5</sup>
<b>Presión de vapor 25 ° C mm Hg</b>	1x10 <sup>-5</sup>	1x10 <sup>-5</sup>	1.0x10 <sup>-11</sup>
<b>Coefficiente de partición Log. octanol-agua (Kow) pH 5.1</b>	3.83	3.62	3.66
<b>Coefficiente de partición Log. octanol-aire (Koa)</b>	10.29	10.29	5.18
<b>Coefficiente de partición Log. octanol-carbono (Koc)</b>	3.5	4.1	Sin información
<b>Constante de disociación</b>	No determinada (sin protones ácidos)	No determinada (sin protones ácidos)	No determinada (sin protones ácidos)
<b>Tiempo de vida media en agua</b>	25 y 128		123- 391
<b>Dosis Letal<sub>50</sub> ratas (mgKg<sup>-1</sup>)</b>	76	240	160

Fuente: [31, 34, 35]

Es importante conocer las propiedades físico-químicas del endosulfán ya que estas depende la ecotoxicidad que presenta. La persistencia del compuesto en agua está relacionada con el tiempo de vida media, cuando este valor es superior a dos meses se considera que el compuesto es persistente. Compuestos con un coeficiente de partición octano-agua, superior a 5, se consideran bioacumulables, para el caso del transporte a largas distancias se puede relacionar con la presión de vapor, ya que a través de los vientos se puede propagar a

distancias lejanas al lugar de aplicación, por lo tanto el endosulfán se considera como un compuesto persistente, biocumulable y que se tiene el potencial de transportarse largas distancias <sup>[35]</sup>.

#### *1.5.1.1 Distribución del endosulfán en el ambiente*

El endosulfán puede ser transportado largas distancias por el aire. Los niveles en el aire varían mucho dependiendo de la localidad, las áreas rurales tienden a tener niveles más altos. El  $\alpha$ - y el  $\beta$ -endosulfán pueden ser degradados en el aire por reacciones químicas y el sulfato de endosulfán por la luz solar. En el agua, el  $\alpha$ - y el  $\beta$ -endosulfán se transforman en una sustancia menos tóxica como el endosulfán diol y el sulfato de endosulfán que es más resistente a degradarse en el agua. En el suelo, el endosulfán se adhiere a partículas, lo que limita su movilización hacia el agua subterránea. El  $\alpha$ - y el  $\beta$ -endosulfán son degradados en el suelo y el sulfato de endosulfán es más resistente <sup>[36]</sup>.

#### *1.5.1.2 Toxicidad del endosulfán*

En el ser humano el endosulfán afecta principalmente al sistema nervioso. La exposición a cantidades altas produce hiperactividad y convulsiones, sin importar la ruta de exposición. La intoxicación grave puede causar la muerte. Estudios en animales han demostrado que la ingestión prolongada de endosulfán en los alimentos afecta principalmente a los riñones <sup>[36]</sup>. Es extremadamente tóxico para peces e invertebrados acuáticos, varios casos de mortandades de estos organismos han sido registrados como consecuencia de la liberación directa de endosulfán en el agua, pero no de su aplicación en campo. En organismos bentónicos produce pérdida del equilibrio, inmovilidad e inhibe su comportamiento normal de enterrarse. La toxicidad en los peces depende de la temperatura (mayor en aguas frías), es proporcional al tamaño y peso de los organismos y produce efectos como cambios histopatológicos en varios órganos, alteraciones bioquímicas y fisiológicas. Estudios en laboratorio muestran una toxicidad de alta a moderada de este plaguicida en aves, con efectos que incluyen: alteraciones en la postura, caídas, temblores y muerte; sin embargo, no se han observado envenenamientos en las poblaciones de pájaros tras su aplicación en campo. Afecta la fotosíntesis en algas y otras plantas acuáticas. Varios efectos fitotóxicos (inhibición de germinación y crecimiento, necrosis en hojas, clorosis, daños en los granos de polen y disminución de la productividad, entre otros) han sido observados en cultivos comerciales a concentraciones elevadas de este plaguicida. Es tóxico para una gran

variedad de microorganismos, en los cuales disminuye el número y viabilidad de las esporas, el crecimiento y la productividad. Algunas bacterias y hongos pueden metabolizar al endosulfán, pero los metabolitos generados afectan su crecimiento. No se han observado efectos a largo plazo con la aplicación de este plaguicida en campo bajo condiciones de uso recomendado. El isómero  $\alpha$  es más tóxico que el  $\beta$  y ambos son más tóxicos que el producto grado técnico<sup>[31]</sup>.

#### *1.5.1.3 Regulación del endosulfán*

La Agencia de Protección al Ambiente (EPA por sus siglas en Ingles) menciona que las concentraciones superiores a  $0.22 \mu\text{gL}^{-1}$  produce intoxicación aguda y  $0.05 \mu\text{gL}^{-1}$  en exposición crónica tienen impactos adversos en la salud de los organismos acuáticos. Esto debería prevenir la manifestación de cualquier efecto adverso en personas que toman agua o consumen pescados o mariscos que viven en el agua. La Administración de Salud y Seguridad Ocupacional (OSHA por sus siglas en Ingles) no ha establecido un límite legal para endosulfán en el aire durante una jornada de 8 horas diarias. El Instituto Nacional de Salud y Seguridad Ocupacional (NIOSH por sus siglas en Ingles) recomienda un límite de 0.1 miligramo por metro cúbico ( $0.1 \text{mgm}^{-3}$ ) para endosulfán en el aire como promedio durante una jornada de 10 horas diarias<sup>[34,37, 38]</sup>.

### **Convenio de Estocolmo**

El Convenio de Estocolmo sobre los Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP) es un tratado internacional para la protección de la salud humana y del ambiente de los efectos de los compuestos químicos que permanecen por largos periodos en el ambiente, que se distribuyen ampliamente y que se acumulan en los tejidos grasos de humanos y animales silvestres. La exposición a estos compuestos puede resultar en problemas graves de salud, como algunos cánceres, defectos de nacimiento, inmunotoxicidad y reproductivos deficientes, entre otros<sup>[39]</sup>.

El Comité de Revisión de COP (POPRC por sus siglas en Ingles) es un cuerpo subsidiario científico creado para revisar los compuestos químicos que son propuestos para inclusión en los Anexos A, B, o C en el texto del Convenio. México formó parte de este Comité donde hay representación regional internacional balanceada. El endosulfán fue presentado para su inclusión en el Anexo A por la Unión Europea en noviembre del 2007. El Comité



de Revisión emitió la decisión POPRC-4/5: Endosulfán en donde se especifica que “se han cumplido los criterios de selección para el endosulfán” y se estableció un grupo de trabajo para elaborar un proyecto de perfil de riesgos <sup>[40-42]</sup>.

Tras evaluar el perfil de riesgos y finalizar la evaluación de gestión de riesgos, el POPRC, en su sexta reunión celebrada en Ginebra del 11 al 15 de octubre 2010, decidió recomendar a la Conferencia de las Partes la inclusión del endosulfán técnico, sus isómeros alfa y beta así como el principal producto de degradación, el sulfato de endosulfán en el Anexo A del Convenio de Estocolmo para su eliminación global con posibilidad de excepciones específicas y temporales <sup>[39]</sup>. México firmó el Convenio de Estocolmo comprometiéndose a reducir o eliminar la liberación de los compuestos orgánicos persistentes (COP) en el ambiente. Las fuentes predominantes de estos compuestos han sido la agricultura, la generación de energía, la industria y el mal manejo de residuos <sup>[43]</sup>. En el convenio se encuentran 24 productos químicos de los cuales 15 son plaguicidas organoclorados (OCP): aldrina, endrina, dieldrina, clordano, clordecona, diclorodifeniltricloroetanos (DDT), heptacloro, mirex, toxafeno, endosulfán e isómeros, hexaclorobenceno (HCB), alfa hexaclorociclohexano (a-HCH), beta-hexaclorociclohexano (b-HCH), el lindano, y pentaclorobenceno <sup>[44]</sup>.

### **Convenio de Róterdam**

Este convenio establece un procedimiento de consentimiento fundamentado previo aplicable a ciertos plaguicidas y productos químicos peligrosos, objeto de comercio internacional. En su sexta reunión realizada en Ginebra, Suiza en marzo 2010, el Comité de Examen de Productos Químicos del Convenio de Róterdam puso a consideración un proyecto de documento de orientación para la adopción de decisiones sobre el endosulfán. Este documento contiene la información notificada originalmente para los siete países de África (Burkina Faso, Cabo Verde, Gambia, Malí, Mauritania, Níger y Senegal) sobre las medidas reglamentarias en estas naciones para prohibir o restringir rigurosamente el endosulfán, así como el informe del grupo de redacción y la compilación de las observaciones emitidas por las Partes. Este documento debe ser enviado a todas las Partes solicitando una respuesta sobre la decisión para futuras importaciones <sup>[39]</sup>.

## **Situación del endosulfán en México**

La COFEPRIS en julio del 2013 dio a conocer las acciones para la eliminación de endosulfán de México, las cuales se describen a continuación:

A partir del 1 de enero del 2013 quedan cancelados todos los permisos de importación a partir de esa fecha.

Las empresas que cuenten con producto almacenado que contengan endosulfán informarán a COFEPRIS de sus inventarios con la intención de implementar un programa de plazo para agotar la existencia de producto.

El 31 de diciembre de 2014 es la fecha límite para la comercialización del endosulfán y 6 meses antes de esa fecha las empresas informarán a la autoridad cuanto producto les queda para establecer las fechas para la destrucción del producto.

A partir del 1 de enero del 2015 se procede a la revocación de los registros sanitarios de los productos que contengan endosulfán, y la autoridad invita a las empresas a que voluntariamente retiren los registros autorizados antes de esa fecha <sup>[45, 46]</sup>.

Se han llevado a cabo talleres dentro del Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC) para evaluar la situación del endosulfán en México, en ellos se ha observado que existe poca información acerca de la presencia de endosulfán en muestras ambientales y, desafortunadamente, esta información se enfoca, principalmente, a zonas costeras del sureste y noroeste de México, con escasa o nula información en el resto del país. Las concentraciones encontradas en los diversos estudios reportados no dimensionan el posible efecto adverso que pudiera tener la presencia del endosulfán en los diversos compartimentos ambientales, pero su presencia en los distintos sustratos ambientales, dada su persistencia, transporte a grandes distancias y capacidad de bioacumulación y biomagnificación justifica aplicar un enfoque precautorio y tomar medidas que reduzcan su liberación ambiental <sup>[47]</sup>.

### **1.6 Tratamientos de aguas residuales**

El tratamiento de agua residual se forma a partir de varias operaciones unitarias, las cuales se mencionan en la figura 4.



**Figura 4.** Tren de tratamiento de aguas residuales. Fuente: [49]

La creciente demanda de la sociedad para la descontaminación de aguas residuales de diversos orígenes, materializada en regulaciones cada vez más estrictas, ha impulsado al desarrollo de nuevas tecnologías de purificación. En la práctica, la aplicación de los métodos de tratamiento debe tener en cuenta fundamentalmente la naturaleza y las propiedades fisicoquímicas de las aguas o efluentes a tratar <sup>[48]</sup>. Varios de los compuestos orgánicos que son descargados al ambiente acuático no solo son tóxicos sino que no pueden ser degradados completamente por los métodos de tratamiento convencionales, por lo que se requiere el uso de tecnologías avanzadas que eliminen y/o degraden este tipo de compuestos con mayor eficiencia y no puedan llegar a incorporarse a cuerpos de agua <sup>[49]</sup>.

Una tecnología eficiente para la degradación de compuestos orgánicos debe contar con características tales como <sup>[50,51]</sup>:

- ❖ Alta eficiencia de destrucción.
- ❖ Formación de compuestos no tóxicos o que sean amigables con el ambiente.
- ❖ El procedimiento se debe realizar bajo condiciones ambientales.
- ❖ Ser de bajo costo.

Los procesos avanzados de oxidación (PAOs) se consideran con alto potencial en el tratamiento de aguas residuales a nivel universal y se caracterizan por la producción de radicales hidroxilos, que pueden ser generados por medios fotoquímicos (incluida la luz solar) o por otras formas de energía, y posee alta efectividad para la oxidación de materia orgánica. Los métodos pueden usarse solos o combinados entre ellos o con métodos convencionales <sup>[52]</sup>. Estas técnicas son eficaces para el tratamiento de compuestos orgánicos refractarios, ya que tienen altos rendimientos, son fáciles de operar y compatibles con el ambiental <sup>[53]</sup>.

### *1.6.1 Procesos Avanzados de Oxidación*

Glaze y colaboradores (1987) definen a los PAOs como “aquellos procesos y tratamientos de agua a presión y temperatura cercanas a las condiciones ambientales, que implican la generación de especies transitorias altamente oxidantes para interaccionar con los compuestos orgánicos del medio”. Estos procesos se basan en reacciones fisicoquímicas capaces de producir cambios sustanciales en la estructura química de los contaminantes presentes en el medio, de manera poco selectiva pero muy activa. En algunos PAOs también se pueden llevar a cabo reducciones químicas que transforman contaminantes tóxicos poco susceptibles a la oxidación como iones metálicos o compuestos halogenados <sup>[54, 55]</sup>.

En la tabla 4 se muestra el potencial de formación del radical hidroxilo y de otros reactantes químicos<sup>[56- 58]</sup>.

**Tabla 4.** Potencial de formación de algunos agentes.

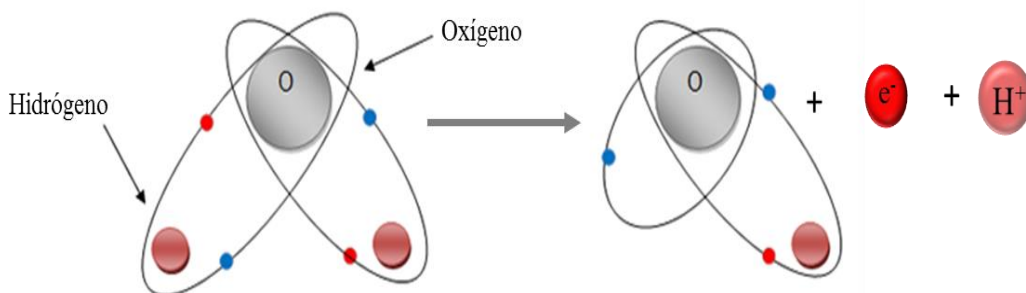
Agente Oxidante	Potencial de formación (V, 25°C)
<b>Flúor</b>	3.06
<b>Radical Hidroxilo</b> <b>H<sub>2</sub>O/•OH</b>	2.80
<b>Ozono</b> <b>O<sub>2</sub>/O<sub>3</sub></b>	2.08
<b>Peroxodisulfato</b> <b>SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>/S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup></b>	2.01
<b>Peróxido de Hidrógeno</b> <b>H<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	1.78
<b>Radical Perhidroxilo</b> <b>H<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O•</b>	1.70
<b>Dióxido de cloro</b> <b>Cl<sup>-</sup>/ClO<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	1.57
<b>Cloro</b> <b>Cl<sup>-</sup>/Cl<sub>2</sub></b>	1.36
<b>Oxígeno</b> <b>H<sub>2</sub>O/O<sub>2</sub></b>	1.23

Fuente: [56- 58]

El flúor es el compuesto que presenta un mayor potencial, sin embargo, debido a su alta toxicidad no es considerado en el desarrollo de los PAOs. La siguiente especie en presentar un potencial alto es el radical hidroxilo el cual posee una menor toxicidad que el flúor y una alta actividad para oxidar materia orgánica.

El radical hidroxilo puede ser generado por varios métodos y es altamente efectivo para la oxidación de materia orgánica recalcitrante, caracterizándose por una baja selectividad,

puede reaccionar de  $10^6$  a  $10^{11}$   $\text{Lmol}^{-1}$  veces más rápido que oxidantes como el  $\text{O}_3$ . Este radical puede producirse también a partir de agua por irradiación de luz o ultrasonidos, como se muestra en la figura 5.



**Figura 5.** Formación del radical hidroxilo por descomposición de la molécula del agua. (Fuente: imagen modificada <sup>[59-60]</sup>).

Los radicales hidroxilos actúan de manera no selectiva sobre los compuestos orgánicos, y pueden hacerlo con tres tipos de ataque inicial:

- ✦ Deshidrogenación o abstracción de un átomo de hidrógeno por parte del radical hidroxilo, formando agua, este hidrogeno lo puede tomar de los contaminantes (alquenos, alcoholes, etc.). Si el sustrato posee enlaces C-H y radical  $\text{R}\cdot$  que en presencia de oxígeno molecular puede dar el radical peroxilo  $\text{ROO}\cdot$  e iniciar así una secuencia oxidativa que puede conducir a la mineralización.
- ✦ Adición electrófila del radical a un doble enlace, sitios de alta densidad electrónica, (es decir, hidroxilación, en compuestos aromáticos, olefinas, etc.) e iniciando una cadena de reacciones de oxidación.
- ✦ Transferencia del electrón desapareado (carbonatos, bicarbonatos, etc.), por oxidación – reducción, causando ionización de la molécula.

El ataque de **deshidrogenación** tiene una constante de velocidad de la reacción en torno a  $10^6 - 10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ), mientras que el de **adición** su constante de velocidad de la reacción es en torno a  $10^8 - 10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) <sup>[61 -64]</sup>.

El proceso y la formación de oxidantes fuertes pueden ser investigados de dos maneras, ya sea como: procesos homogéneos o heterogéneos y su división se observa en la figura 6.



**Figura 6.** Clasificación de los Procesos de Oxidación Avanzada <sup>[65]</sup>.

Los procesos avanzados de oxidación ofrecen varias ventajas sobre los procesos físicos [66,67].

#### Ventajas

- ❖ Mineralización completa de los compuestos orgánicos.
- ❖ Tratamiento de contaminantes orgánicos resistentes a otros tratamientos como los biológicos.
- ❖ Transformación de compuestos recalcitrantes sometidos a sistemas de biodegradación.
- ❖ Combinación con otros procesos.
- ❖ Altas velocidades de reacción.
- ❖ Formación mínima de subproductos.
- ❖ No producen residuos que requieran tratamiento adicional.

#### Desventajas

- ❖ No todos los procesos pueden escalarse a nivel industrial.
- ❖ Mayores costos de capital y operativos comparados con los métodos convencionales.

- ❖ En algunos casos se requiere el control de la concentración de oxidante y la corrección del pH.
- ❖ Modificación de las propiedades superficiales de los catalizadores utilizados en sistemas heterogéneos.

Los mecanismos con radicales son complejos, la oxidación de la materia orgánica por los radicales hidroxilo implica varios tipos de especies y reacciones <sup>[68]</sup>.

- a) Reacciones de iniciación durante las cuales se forman radicales.
- b) Reacciones de propagación que implica especies de radicales tipo R• que reaccionan con otras moléculas orgánicas neutras o con el oxígeno disuelto en la solución.
- c) Reacciones de terminación donde los radicales se combinan entre ellos.

#### *1.6.1.1 Oxidación Electroquímica*

Los procesos electroquímicos han sido de gran interés en los últimos años, debido a que usan energía eléctrica y se consideran tecnologías amigables con el ambiente ya que el electrón es el único “reactivo” intercambiado; pueden trabajar a temperatura y presión atmosférica, solo se requiere un reactor electroquímico, en el que los electrodos establecen una diferencia de potencial por medio de una fuente de alimentación, lo que provoca una movilidad de electrones y las reacciones de oxidación y reducción en cada uno de los electrodos <sup>[69,70]</sup>. La degradación electroquímica de los contaminantes orgánicos e inorgánicos en los efluentes es conocido como electrooxidación.

La electrooxidación se lleva a cabo en una celda que contiene una solución a tratar, a la cual regularmente se le adiciona iones que no participan en la reacción (electrolito soporte), para que sea capaz de conducir electricidad, también se compone por un electrodo de trabajo (ánodo) y un contraelectrodo (cátodo) <sup>[69]</sup>.

En los electrodos la carga se mueve por las bandas de conducción del metal pero cuando los electrones llegan al electrolito, los iones disueltos en él son responsable del transporte de la carga y puede llevar esta tarea a cabo a través de 3 métodos <sup>[71]</sup>.

1. **Transporte de masa y carga por difusión:** Es el transporte de materia que surge como resultado del cambio de potencial químico de un compuesto dado en varios



lugares del electrolito (las partículas se mueven de mayor concentración a menor concentración) <sup>[72]</sup>.

2. **Transporte de masa y carga por convección:** Es el proceso de transporte de materia provocado por un gradiente de temperatura o también se le llama así a la acción mecánica del movimiento de una porción macroscópica del electrolito espontánea o provocada por un agente externo. Las fuerzas que pueden originar este movimiento masivo pueden ser de naturaleza mecánica, agitación, y/o la originada por la acción de la fuerza gravitatoria en porciones del electrodo con diferentes densidades, llamada convección natural <sup>[72]</sup>.
3. **Transporte de masa y carga por migración:** Se conoce como el transporte de masa y carga debido a la acción de un campo eléctrico. Este fenómeno provoca un movimiento cuya dirección queda determinada prácticamente por la geometría del electrodo. En el caso más común de un electrodo plano, las líneas de campo son perpendiculares a las líneas del mismo. Los electrones se dirigen al electrodo de polaridad opuesta siguiendo las mismas direcciones de las líneas de campo. Por otro lado, el que todas las moléculas que se quieran oxidar tengan físicamente la oportunidad de llegar al electrodo, debe ser optimizado mediante un diseño adecuado de la celda de reacción. Para solucionar este problema en reactores de reflujo cerrado, la agitación es un gran aporte y para reflujo abierto, una velocidad de flujo apropiada <sup>[72]</sup>.

### **Mecanismo de oxidación de compuestos orgánicos.**

La oxidación anódica es otro tratamiento perteneciente a los PAOs y se basa en la generación de radicales HO• formados durante la oxidación del agua. El fundamento básico de los procesos de electrooxidación es la oxidación total (mineralización) o parcial (conversión de la materia orgánica a compuestos más sencillo más fácilmente degradables y menos contaminantes) de la materia orgánica utilizando la corriente eléctrica <sup>[73]</sup>. Estos procesos están íntimamente relacionados con procesos anódicos. La oxidación se divide en dos:

- A) **Directos.** En este caso el contaminante es oxidado directamente en la superficie del ánodo mediante la generación de oxígeno activo fisisorbido en la superficie del

ánodo (radicales hidroxilo HO• adsorbidos en la superficie del ánodo) u oxígeno activo quimisorbido en la superficie del ánodo (oxígeno en la red del óxido de metal del ánodo). En el primero de estos procesos, el oxígeno activo fisisorbido produce la combustión completa de los compuestos orgánicos, mientras que el oxígeno activo quimisorbido produce una oxidación parcial de los compuestos orgánicos.

**B) Indirectos.** La oxidación no ocurre en la superficie del ánodo, en estos casos en el ánodo se generan especies oxidantes como peróxido de hidrógeno, ozono o cloro, proveniente de la oxidación de los cloruros presentes en el agua, que son liberados al agua y son éstos los que realmente oxidan a la materia orgánica presente en el agua <sup>[74, 75]</sup>.

Los parámetros que afectan el desempeño de los procesos electroquímicos son:

- ✿ *Potencial de electrodo y densidad de corriente.* Controlan la reacción que debe ocurrir, la velocidad de la reacción y la eficiencia del proceso.
- ✿ *Distribución de Corriente.* Determina la distribución espacial de los consumos de reactivos, por lo que debe ser lo más homogénea posible.
- ✿ *Régimen de transporte de masa.* Un coeficiente alto de transferencia de masa conduce a una buena uniformidad de la concentración del contaminante en la superficie del electrodo, lo que genera una mayor eficiencia.
- ✿ *Diseño de la Celda.* El tamaño de la celda, la presencia o ausencia de un separador, la elección del electrodo, etc., afectan el rendimiento del proceso electroquímico.
- ✿ *Medio de Electrolisis.* La elección del electrolito su concentración, pH y temperatura.
- ✿ *Material del electrodo.* El material ideal para un electrodo en la degradación de contaminante, debe ser estable en el medio de electrolisis, de bajo costo y mostrar una alta actividad hacia la oxidación orgánica y una baja actividad hacia reacciones secundarias <sup>[76]</sup>.

## Naturaleza del electrodo

Uno de los principales problemas observados en este proceso, es la disminución de la actividad causada por la evolución de O<sub>2</sub> y la formación de películas sobre la superficie del

electrodo debida a la reacción de oxidación de agua para generar oxígeno ya que esta reacción tiene lugar sobre el ánodo, teniendo en cuenta que el agua es el disolvente y está en mayor concentración que el contaminante esta reacción se ve favorecida a retardar o evitar la reacción deseada de oxidación de materia orgánica, disminuyendo la eficiencia de la corriente empleada. Esto se puede evitar parcialmente usando ánodos con materiales con un alto sobrepotencial de oxígeno, los cuales necesitan un mayor potencial eléctrico para exceder la energía de activación para la producción de oxígeno molecular.

El comportamiento de los electrodos va a depender del material que estén fabricados y se clasifican de la siguiente manera:

1. **Ánodos activos:** tienen un bajo sobrepotencial para la evolución el  $O_2$ , los estados de oxidación superiores de los metales se encuentran disponibles en la superficie de los electrodos y los radicales  $\bullet OH$  interactúan con el ánodo formando los superóxidos, los cuales poseen un menor poder de oxidación, lo que da lugar a que el contaminante inicial se degrade solo hasta ácidos carboxílicos de cadena corta, actuando como mediadores selectivos en la oxidación de compuestos orgánicos. Los superóxidos formados oxidan a los contaminantes o se descomponen para formar  $O_2$ . Los ánodos fabricados con carbono, grafito, platino, óxido de iridio y óxido de ruterio se encuentran en esta categoría.
2. **Ánodos no activos** tienen altos sobrepotenciales para la evolución el  $O_2$ , los radicales  $\bullet OH$  están tan débilmente adsorbidos en la superficie anódica que puede reaccionar con los orgánicos, produciendo la mineralización, no participan de modo directo sino como un suministro de electrones. Entre más alto sea el sobrepotencial para la evolución el  $O_2$ , más débil es la interacción del radical  $\bullet OH$  con la superficie del ánodo y mayor es la reactividad química hacia la oxidación de los compuestos orgánicos. Ánodos fabricados con dióxido de estaño, dióxido de plomo y de diamante dopados con boro se consideran no activos <sup>[77-81]</sup>.

En la tabla 5 se muestran los potenciales para la evolución de oxígeno de los diferentes materiales con lo que se fabrican los ánodos <sup>[82-87]</sup>.

**Tabla 5.** Potencial para la evolución de O<sub>2</sub> de varios materiales anódicos.

Material anódico	Potencial para la evolución de O <sub>2</sub> (V/SHE)
<b>RuO<sub>2</sub></b>	1.4 - 1.7
<b>IrO<sub>2</sub></b>	1.5 - 1.8
<b>Pt</b>	1.6 - 1.9
<b>Grafito</b>	1.7
<b>PbO<sub>2</sub></b>	1.8 - 2.0
<b>SnO<sub>2</sub></b>	1.9 - 2.2
<b>DDB</b>	2.2 – 2.6

Fuente: [82-87]

### Electrodos de Diamante Dopados con Boro

El diamante es una forma cristalina extremadamente dura del carbón y se considera un material excelente para muchas aplicaciones debido a que en la superficie no presenta óxidos sólidos estables y a que la química del diamante está relacionada con procesos químicos orgánicos. Como consecuencia, es posible adaptar las propiedades de la superficie del diamante a muchas aplicaciones cambiando la funcionalización de la superficie [88, 89]. Debido al gran interés que generaron estas propiedades del diamante se comenzaron a realizar estudios sobre las películas de diamante.

La síntesis del diamante se obtuvo por primera vez mediante la técnica de alta presión – alta temperatura (HPHT, por sus siglas en inglés); esta técnica combina polvos de grafito y de metales de transición como hierro, níquel, cobre, entre otros; esta mezcla es sometida a altas presiones (~80-300 kbar) y altas temperaturas (~ 1900-3000 °C) de tal manera que el componente catalizador se funde. La reacción se equilibra entonces durante un cierto tiempo; la temperatura se reduce entonces gradualmente para reducir la solubilidad del carbono en el catalizador, dando como resultado la precipitación del exceso de carbono como diamante. El papel del catalizador en la técnica HPHT no es sólo disminuir la energía de activación requerida para la conversión de grafito en diamante sino también disolver los átomos de carbono en el grafito, permitiéndoles así reconstituirlos como diamante. Debido a la disponibilidad de solamente diamantes naturales y diamantes sintéticos costosos solamente en forma de arena abrasiva (a través de la técnica HPHT), se entendió que la

mayoría de las propiedades del diamante podrían obtenerse para aplicaciones tecnológicas sólo cuando se sintetiza como una película delgada a menudo unido químicamente a un material subyacente de sustrato no diamantado. La deposición química de vapor (DQV) ha sido la técnica más utilizada para sintetizar películas de diamante, esta técnica implica el crecimiento de una red de átomos de carbono unidos tetraédricamente afectada por la adición de un átomo de carbono a la vez desde una fase gaseosa adecuada a una plantilla inicial, la ventaja que presenta es que se realiza a presiones más bajas que la técnica HPHT [88, 90].

Las tres etapas que conducen a la incorporación de especies de gas en la fase sólida de diamante en crecimiento en el procedimiento DQV son:

- ❖ Activación de las mezclas de gases.
- ❖ Reacciones en fase gaseosa.
- ❖ Difusión de especies de gas sobre la superficie del sustrato.

La química adicional ocurre en la superficie de la reacción y finalmente el crecimiento del diamante ocurre. La microestructura de las películas de diamante puede variar desde granos columnares orientados (incluyendo granos epitaxiales) hasta una estructura nanocristalina, dependiendo de las condiciones de deposición, tales como pretratamiento superficial, temperatura, presión y composición de gases. Cuando las especies de gas responsables del crecimiento del diamante alcanzan la superficie de reacción, se adhieren a ella y se asientan rápidamente en posibles posiciones de equilibrio antes de que se formen defectos estructurales en el frente de crecimiento, se puede obtener una película de diamante cristalino. Por el contrario, cuando los mismos átomos no se asientan rápidamente en posiciones de equilibrio estables a su llegada a la superficie de reacción pueden obtenerse películas de diamante nanocristalino. Estas películas son depositadas en soportes de Si, Ti, Ta, Nb y W, siendo las más utilizadas las de Si debido a su gran estabilidad electroquímica. Se han reportado un gran número de investigaciones realizadas con DDB soportados en cada uno de estos materiales; sin embargo, también han sido encontrados ciertos limitantes; los DDB depositados en soportes de Nb tienen un alto costo, lo que ocasiona poca viabilidad para ser utilizados a gran escala. Para el caso de los electrodos depositados en Ti han presentado agrietamiento y desprendimiento del recubrimiento de diamante durante la

electrolisis por periodos prolongados. Los Si/DDB son los más frágiles y tienen una conductividad relativamente baja <sup>[90, 91]</sup>.

La conductividad del diamante se puede mejorar significativamente por dopaje con boro. El boro es el elemento de dopaje más utilizado en el dopaje de carbono. Este elemento es el único capaz de entrar en la red de átomos de carbono, sustituyendo los átomos de carbono en los sitios trigonales, el boro altera las propiedades electrónicas del material sin cambiar significativamente los parámetros de red. Por la sustitución de los átomos de carbono por el boro, se produce la formación de un nivel de impureza con una energía de activación a 0.37 eV por encima de la banda de valencia en el diamante. Debido a que los átomos de boro trivalentes son deficientes en electrones, aceptan electrones de la banda de valencia del diamante generando átomos de carbono deficientes en electrones (los llamados agujeros) y son capaces de mantener una carga positiva. En la estructura atómica del diamante, cada agujero es asociado a un ión de boro cargado negativamente, que mantiene la carga eléctrica neutra. El dopaje se logra generalmente añadiendo diborano ( $B_2H_6$ ) o trimetil borato ( $B(OCH_3)_3$ ) a la corriente gaseosa, o poniendo polvo de boro cerca de los bordes del sustrato antes de meter en la cámara de DQV <sup>[69, 88, 90]</sup>.

Las propiedades más importantes de los electrodos de diamante dopados con boro (DDB) son <sup>[92]</sup>:

- Gran ventana de potencial.
- Menor adsorción.
- Estabilidad a la corrosión en medios muy agresivos.
- Alta eficiencia en procesos de oxidación.
- Muy baja capacitancia de doble capa.
- Corriente de fondo.

Los electrodos DDB se caracterizan por una cinética muy lenta de reacciones de la esfera interior como la evolución de  $O_2$ ; para este tipo de procesos se requieren sobretensiones muy altas. El enlace muy débil entre la superficie del diamante y los intermedios activos (radicales hidroxilo) es la causa de la cinética lenta de este tipo de reacción. Sin embargo, los radicales hidroxilo débilmente enlazados son químicamente activos a potenciales

próximos al desarrollo del oxígeno. En esta región potencial, se evitan todos los efectos de pasivamiento y se obtiene una eficiencia de corriente muy alta <sup>[93]</sup>.

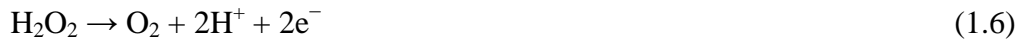
La principal aplicación en la investigación es la oxidación electroquímica de los contaminantes orgánicos, sin embargo la versatilidad de este material se ha extendido al electroanálisis con varios propósitos entre los cuales se encuentran la detección de especies inorgánicas, síntesis de compuestos orgánicos, electroanálisis, conversión de energía y como biosensores <sup>[94]</sup>.

El tratamiento de aguas residuales con electrodos de DDB se propone como un método de oxidación, en el cual, los compuestos refractarios que se encuentran presentes son transformados a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O, cuando se llega a una mineralización o pueden ser transformados en compuestos biocompatibles.

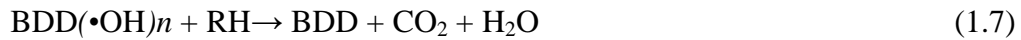
Durante la degradación electroquímica por electrodos BDD, los productos químicos orgánicos se destruyen o se convierten mediante un proceso de oxidación directo o indirecto, se generan electroquímicamente oxidantes fuertes tales como especies activas de cloro, ozono y/o peróxido de hidrógeno; estas especies contribuyen en la degradación de contaminantes <sup>[95]</sup>.

En la oxidación electroquímica del agua con DDB, los electrodos muestran terminaciones hidrogenadas que se oxidan antes que se den las reacciones para la evolución del oxígeno con DDB comienza aproximadamente en 2.3 vs SCE por oxidación de agua y formando los radicales hidroxilo (reacción 1.1), por lo que se ha sugerido que los grupos hidroxilo son el resultado de una fuerte oxidación electroquímica. La evolución del oxígeno puede implicar dos diferentes mecanismos que ocasionan la oxidación del radical hidroxilo o el acoplamiento de dos •OH (reacciones 1.2 y 1.3), dando como resultado la formación de peróxido de hidrógeno (reacción 1.5), que, a su vez puede ser oxidado a oxígeno (reacción 1.6).



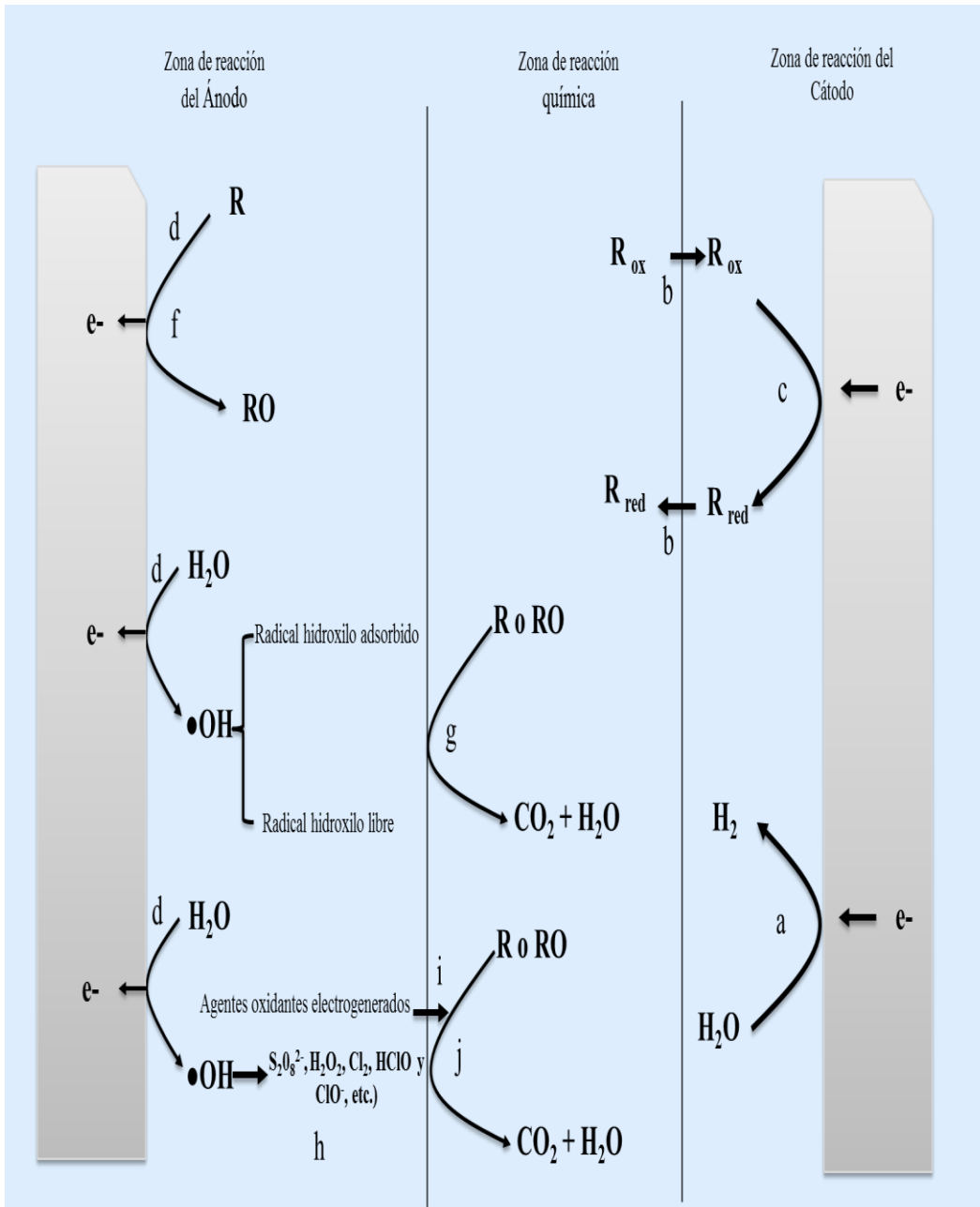


En presencia de compuestos orgánicos, los radicales hidroxilo están involucrados en la oxidación, la cual se encuentra en competencia con la evolución del oxígeno (reacción 1.7) [96].



Los principales procesos relacionados con la eliminación de los contaminantes implican rutas oxidativas irreversibles que pueden llevarse a cabo mediante **métodos directos** o **indirectos**; estos procesos se encuentran esquematizados en la figura 7. En consecuencia, los procesos reductores son menos importantes, y se puede suponer que, en el cátodo ocurre la evolución del hidrógeno (**a**) y también se pueden reducir algunos compuestos orgánicos (**b**), se deben considerar los procesos de transferencia de masa y de reducción (**c**). Cuando se emplea un material como el diamante dopado con boro, el ánodo actúa sólo como un intercambiador de electrones. El primer proceso que debe considerarse es la transferencia de masa de los compuestos desde la zona donde se encuentra el compuesto a la zona anódica (**d**). Los compuestos orgánicos pueden sufrir oxidación directa sobre la superficie del electrodo (**f**), este proceso puede ocurrir en una etapa o etapas múltiples, y continúa hasta que se genera el producto de oxidación final ( $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ ). Al mismo tiempo, la descomposición de moléculas de agua puede conducir a la aparición de radicales hidroxilo (**g**). Los radicales hidroxilo no son estables y pueden causar la formación de otros oxidantes (ozono, peróxido de hidrógeno, peroxodisulfato, cloro, etc.) que pueden reaccionar químicamente con la materia orgánica (**h**). Si estos compuestos oxidantes llegan a la zona donde se encuentra el compuesto, es necesario tener en cuenta el proceso de transferencia de masa (**i**) y la oxidación de los compuestos en esta zona (**j**) [97, 98].





**Figura 7.** Esquema de los procesos de electroquímicos en el ánodo y cátodo con los electrodos DDB. (Fuente: imagen modificada [97, 98].)

Desde hace varias décadas los DDB han sido ampliamente utilizados en la degradación de un sin número de contaminantes orgánicos y en la tabla 6 se enlistan algunos de estos trabajos.

**Tabla 6.** Aplicación de la oxidación electroquímica con ánodos de DDB.

Contaminante	Condiciones de Experimentales	Máxima eficiencia reportada	Referencia
<b>Paracetamol</b>	Concentración paracetamol: 1gL <sup>-1</sup> corriente aplicada: 100 mA, Tiempo de reacción 4h , Electrolito soporte Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.1M, pH 3	Remoción del 98% de COT	[99]
<b>17β- estradiol</b>	Concentración 17β- estradiol: 500 μg-dm <sup>-3</sup> Corriente aplicada: 50 mA, Tiempo de reacción: 30 min electrolito soporte Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH 6	Remoción del 100%	[100]
<b>Pirogalol</b>	Concentración: 16 mM , Densidad de corriente aplicada: 30 mAcm <sup>-2</sup> , Tiempo de reacción: 15 min electrolito soporte Na <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , pH 2	Mineralización completa	[101]
<b>Alizarin Rojo S</b>	Concentración: 0.278 mM , Densidad de corriente aplicada: 40 mAcm <sup>-2</sup> , Tiempo de reacción: 10 h electrolito soporte Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH 2	Mineralización completa	[102]
<b>Efluentes textiles industriales</b>	Corriente aplicada: 60 mA, Tiempo de reacción: 10h electrolito soporte Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Remoción del 100% para DQO	[103]
<b>Metilparatión</b>	Concentración: 60 mgL <sup>-1</sup> Densidad de corriente: 100 mAcm <sup>-2</sup> , Tiempo de reacción 180 min, Electrolito soporte H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.1M	Remoción de paracetamol del 81.2%	[104]
<b>Agua residual tipo textil</b>	Densidad de corriente: 60 mAcm <sup>-2</sup> , Tiempo de reacción 12 h, Electrolito soporte NaCl 0.1M	Remoción del 95% de DQO	[105]
<b>Tartrazina</b>	Concentración tartrazina: 30 gL <sup>-1</sup> Densidad de corriente aplicada: 5 mA, Tiempo de reacción 4h , Electrolito soporte NaCl 0.03M, pH 6	Remoción de 96.9% de DQO	[106]
<b>Verde de malaquita</b>	Concentración tartrazina: 30 gL <sup>-1</sup> Corriente aplicada: 32 mA, Tiempo de reacción: 60 min electrolito soporte Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH 3	Remoción de 98 %	[107]
<b>Metilparabeno</b>	Concentración: 100 mgL <sup>-1</sup> , Densidad de corriente aplicada: 10.8 mAcm <sup>-2</sup> , Tiempo de reacción: 300 min electrolito soporte K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH 7	Mineralización completa	[108]
<b>Losartan</b>	Concentración: 0.377 mM , Densidad de corriente aplicada: 10 mAcm <sup>-2</sup> , Tiempo de reacción: 360 min electrolito soporte Na <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , pH 7	Remoción del 71% de COT	[109]

### 1.6.1.2 Ozonación

Desde 1893 el ozono ha sido utilizado como agente desinfectante para el agua potable en Europa. A demás de sus propiedades de desinfección, puede eliminar el sabor, olor, color así como degradar compuestos orgánicos, desde entonces se han realizado un gran número de investigaciones sobre el tratamiento de aguas residuales mediante ozono <sup>[110, 111]</sup>. Algunas de sus propiedades fisicoquímicas se muestran en la tabla 7 <sup>[112]</sup>.

**Tabla 7.** Propiedades fisicoquímicas del Ozono.

Fórmula molecular	O <sub>3</sub>
<b>Peso molecular</b>	48 g
<b>Densidad absoluta</b>	2.144 gL <sup>-1</sup>
<b>Densidad relativa</b>	1.658 gL-1
<b>Punto de ebullición</b>	-111.9 °C
<b>Punto de fusión</b>	-192.7°C
<b>Presión crítica</b>	54.6 atm
<b>Calor de formación</b>	144.7 KJ/mol
<b>Conversión O<sub>2</sub> a O<sub>3</sub></b>	34.410 cal/mol
<b>Equivalencia Oxígeno-Ozono</b>	3O <sub>2</sub> = 2O <sub>3</sub> - 68.82 Kcal
<b>Descomposición del Ozono</b>	O <sub>3</sub> = O <sub>2</sub> + O - 24.75 Kcal
<b>Solubilidad en el agua (a 20°C 1 atm.)</b>	3 mgL <sup>-1</sup>
<b>Temperatura crítica</b>	O <sub>3</sub> = 131°K

Fuente: [112]

El ozono es un gas con un olor característico. Es un alotropo que contiene tres átomos de oxígeno. La resonancia de la estructura del ozono se muestra en la figura 8. Las propiedades electrofílicas del ozono son atribuidas a las formas **1** y **4**, ya que tienen un oxígeno terminal cargado positivamente con solo seis electrones. Estas formas son consistentes con la adición química 1,3 del ozono a los dobles enlaces <sup>[113]</sup>.

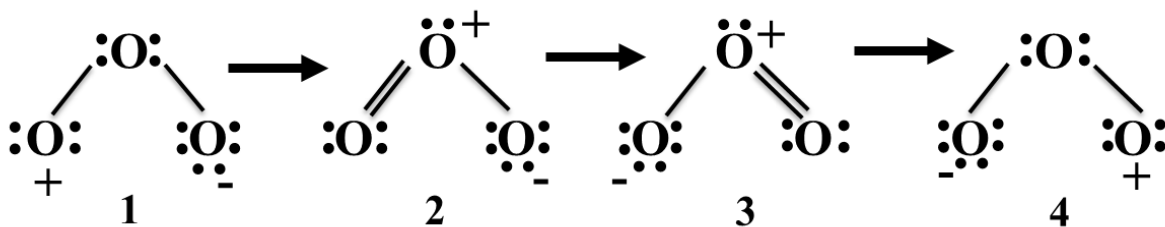


Figura 8. Resonancia de la estructura de ozono. (Fuente: [113]).

### Producción de Ozono

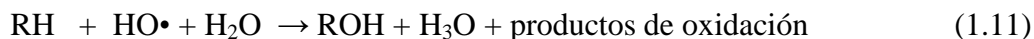
El ozono se puede producir de diferentes maneras, entre las más usadas se encuentran:

- ✿ Proceso de descarga eléctrica silenciosa (Efecto Corona): Consiste en pasar aire u oxígeno a través de un intenso campo de corriente alterna de alta frecuencia y alta tensión (3,700 – 12,500), así se crea un flujo de electrones entre los electrodos, que aportan la energía suficiente para disociar las moléculas del oxígeno, permitiendo la formación del ozono. Esta es la manera más común de generar ozono comercialmente.
- ✿ Irradiación UV: Se produce mediante la irradiación UV de aire, solo se logra generar en concentraciones de partes por millón, solo es utilizada para producir pequeñas cantidades de ozono.
- ✿ Proceso Electroquímico: Se lleva a cabo en un medio ácido, utilizando un electrodo de grafito como cátodo y uno de platino como ánodo, al aplicar una diferencia de potencial se produce el ozono, es muy utilizada a nivel laboratorio <sup>[114]</sup>.

### Reactividad del ozono

El incremento del uso de ozono en el tratamiento de aguas residuales, es debido a que reduce la formación de trihalometanos y ácidos haloacéticos, ayuda a la formación de mayor cantidad de componentes polares e incrementa la biodegradabilidad. El ozono en solución acuosa puede reaccionar con la mayoría de contaminantes que están presentes en el agua mediante dos mecanismos de reacción.

- a) **Directo:** El ozono oxida mayoritariamente las moléculas que contienen dobles enlaces carbono-carbono y alcoholes aromáticos. Además puede romper la estructura de la materia orgánica natural y propiciar la transformación de los compuestos de alto peso molecular en otros de bajo peso como ácidos carboxílicos, carbohidratos y aminoácidos <sup>[52, 71]</sup>. Es un mecanismo selectivo, que se da por un ataque electrofílico del ozono; este mecanismo se lleva a cabo a valores de pH bajos <sup>[115, 116]</sup>.
- b) **Indirecto:** La oxidación se realiza por la reacción de las especies formadas por la descomposición del ozono en agua. En una reacción que siga la vía de radicales, el mecanismo se basa principalmente en la formación de radicales hidroxilo, el cual actúa mediante un mecanismo no selectivo <sup>[115]</sup>. La velocidad de formación de los radicales hidroxilo depende de la matriz de la muestra y se ve favorecida a valores de pH alcalinos <sup>[117]</sup>. Las reacciones que se llevan a cabo para la formación del radical hidroxilo son:



En la oxidación de compuestos orgánicos vía ozono, solo una pequeña cantidad llega hasta la mineralización, la mayoría de estos compuestos solo son transformados en sustancias más hidrofílicas con un similar o menor peso molecular. Se ha observado que la mayoría de los productos de degradación son compuestos como aldehídos, cetonas y ácidos carboxílicos <sup>[111]</sup>.

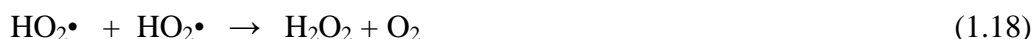
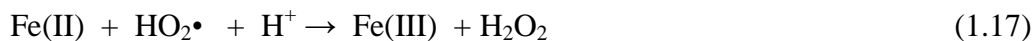
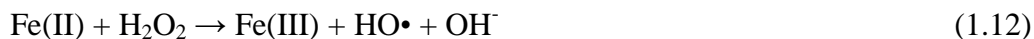
El ozono ha sido empleado tradicionalmente en el tratamiento de agua potable <sup>[118-120]</sup> en donde se observó que una dosis de ozono de  $2 \text{ mgL}^{-1}$  era capaz de eliminar más de 80% de algunos fármacos de un efluente del tratamiento secundario de una depuradora de aguas residuales. Adams y colaboradores (2002) mostraron que la ozonación elimina más del 95% de varias sulfonamidas y trimetoprima de un agua de río en 1.3 minutos de tiempo de contacto con concentraciones de ozono de  $7.1 \text{ mgL}^{-1}$ . Durante la ozonación de aguas

residuales los compuestos orgánicos reaccionan predominantemente por vía directa con ozono, otros son oxidados y transformados en gran medida por los radicales hidroxilo [121,122].

Begum y colaboradores (2014) [123] realizaron un estudio con ozono para degradar el endosulfán y lindano, encontrando que la dosificación óptima de ozono fue de  $57 \text{ mg min}^{-1}$  para lograr una degradación de endosulfán de 89% y de lindano un 43%. El pH de 10 fue elegido como el óptimo para la degradación del endosulfán la cual fue de 93%. Un valor de pH de 12 fue elegido como el óptimo para el lindano, donde la degradación fue de 82%. La cinética de la degradación fue de primer orden en ambos casos.

#### 1.6.1.3 Fenton

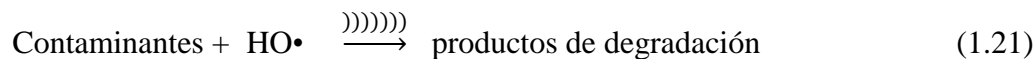
La reacción Fenton consiste en emplear  $\text{H}_2\text{O}_2$  en un medio ácido para generar radicales hidroxilo utilizando sales de hierro (II). Los sitios activos derivan de los iones de hierro que sirven como catalizador para la descomposición de las moléculas de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en radicales hidroxilo.



Algunas de las desventajas que presenta este proceso son que presenta una dependencia al pH ácido, formación lodos de hidróxidos férricos y la recuperación del catalizador es complicada [49].

#### 1.6.1.4 Ultrasonido

El uso del ultrasonido para el tratamiento de aguas residuales ha sido estudiado en los últimos años, debido a la producción de radicales hidroxilo en soluciones acuosas, los cuales son utilizados posteriormente en la oxidación de contaminantes orgánicos. Este proceso puede llevarse a cabo en presencia de  $\text{O}_3$  o  $\text{H}_2\text{O}_2$  [124].



#### 1.6.1.5 Radiación Ultravioleta

El radical hidroxilo puede ser generados a partir la fotólisis de nitratos, nitritos y peróxido de hidrogeno bajo luz natural. En 2014 se desarrolló un diodo emisor de luz azul (LED), el cual dio paso a generar LEDs de longitud corta que emiten en la región ultravioleta (UV). Recientemente, los elementos UV-LED de alta potencia, bajo costo y de larga vida han quedado disponibles en el mercado. Este sistema se utiliza para determinar la constante de velocidad de reacción entre los radicales hidroxilo y los productos químicos. Se ha demostrado que un LED UV de 365 nm de alta potencia puede generar radicales hidroxilo por fotólisis de soluciones acuosas de nitrito submicromolar con un máximo de absorción situado en torno a 355 nm <sup>[125]</sup>.



Como se ha mencionado con anterioridad, una de las desventajas que presentan los procesos avanzados de oxidación son los altos costos que generan, es por ello, que el acoplamiento con un proceso biológico, podría ser una solución que permita reducir costos y mejorar la eficiencia de todo el proceso. La electrooxidación y la ozonación muestran un gran potencial para el tratamiento de compuestos refractario, la fitorremediación también ha demostrado ser eficiente en la extracción o degradación de compuestos orgánicos e inorgánicos. Las rutas biológicas se consideran en promedio 10 veces menos costosas que los métodos a base de ingeniería <sup>[126, 127]</sup>.

### 1.6.2 Fitorremediación

La fitorremediación representa una tecnología sustentable que se basa en el uso de plantas para reducir *in situ* o *ex situ* la concentración o peligrosidad de contaminantes orgánicos e inorgánicos de suelos, sedimentos, agua y aire, a partir de procesos bioquímicos realizados por las plantas y microorganismos asociados a su sistema de raíz que conduce a la reducción, transformación, volatilización, estabilización y mineralización de diversos tipos de contaminantes. Estas fitotecnologías brindan muchas ventajas comparadas con los procesos fisicoquímicos, su gran número de aplicaciones y su bajo costo, son ejemplo de ello <sup>[128, 129]</sup>.

Las aplicaciones de la fitorremediación pueden clasificarse de acuerdo al destino del contaminante: transformación, extracción, contención o una combinación de ellos. También pueden clasificarse en base al mecanismo con el que actúan, entre estos mecanismos se incluyen la extracción de contaminantes del suelo, sedimentos o agua subterránea, concentración de contaminantes en el tejido de la planta, degradación por varios procesos bióticos y abióticos, volatilización o transpiración de contaminantes volátiles de las plantas al aire, inmovilización de los contaminantes en la zona de la raíz, control hidráulico en agua subterránea contaminada y control del escurrimiento, erosión e infiltración por capas vegetales <sup>[130]</sup>.

Ventajas y desventajas de la fitorremediación <sup>[131]</sup>:

#### Ventajas

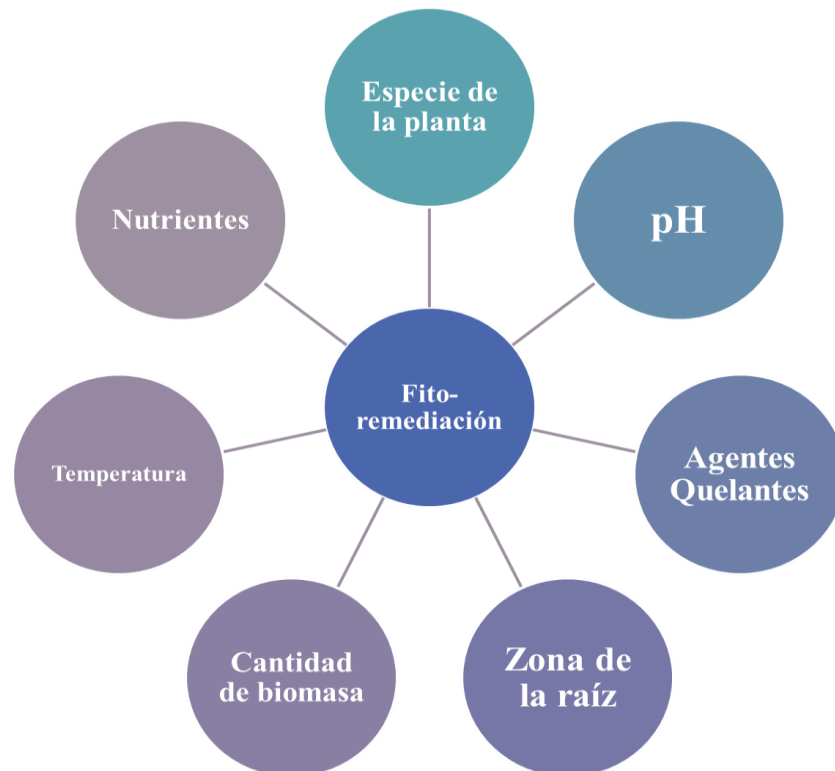
- ❖ Pueden ser tratados gran variedad de compuestos tanto orgánicos como inorgánicos.
- ❖ Puede ser utilizada *in situ* o *ex situ*.
- ❖ Es una tecnología verde, por lo que es amigable con el ambiente.
- ❖ Es estéticamente agradable al público.
- ❖ No requiere equipo con altos costos o alta capacitación para el personal.
- ❖ Es relativamente fácil de implementar.
- ❖ Bajo costo comparado con las tecnologías convencionales.



## Limitaciones

- ❖ Requiere un tiempo de proceso largo, por lo que pueden ser hasta años para limpiar un lugar contaminado.
- ❖ El uso de plantas denominadas “invasivas”, pueden afectar la biodiversidad.
- ❖ La mala disposición de las plantas que han sido utilizadas para proceso de fitoextracción, puede llegar a convertirse en un problema de salud.
- ❖ El clima es un factor determinante en el crecimiento de la planta.
- ❖ En áreas altamente contaminadas su uso es limitado.

Los factores que afectan el proceso de fitorremediación se muestran en la figura 9



**Figura 9.** Factores que afectan el proceso de Fitorremediación. (Fuente: [132]).

Las plantas tienen el poder de absorber, transformar y alterar a los contaminantes. La fitorremediación involucra mecanismos los cuales se describen a continuación y se esquematizan en la figura 10.

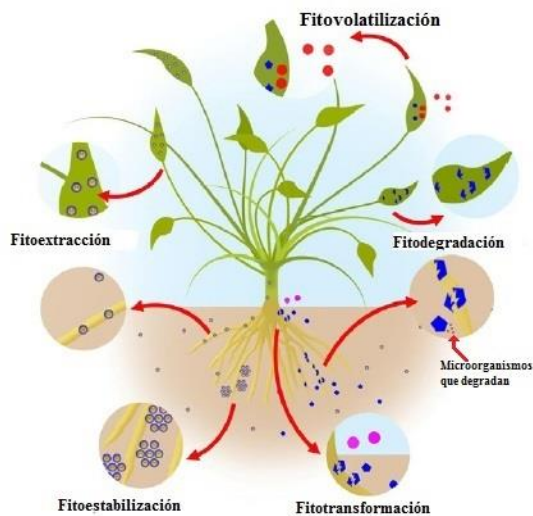
**Fitoestabilización:** También llamada fitoinmovilización, actúa por un mecanismo de complejación; en el cual, plantas específicas estabilizan los contaminantes e impide la movilización horizontal. En esta técnica, los contaminantes no se almacenan en los tejidos de las plantas, si no en suelo, de esta manera son menos disponibles biológicamente. Se ha utilizado en tratamiento para lagunas de deshecho de yacimientos mineros, aguas residuales, compuestos fenólicos y clorados.

**Fitoextracción:** Actúa por un mecanismo de hiperacumulación, en el cual, las raíces de las plantas absorben los contaminantes desde el agua o suelo y son acumulados en ellas o transportarlos a partes superiores en la biomasa aérea como los brotes. Este mecanismo es apropiado para tratar grandes áreas en lugares con una contaminación de baja a moderada.

**Fitovolatilización:** Es el mecanismo por el cual las plantas toman contaminantes de su entorno para después transpirarlos; la transpiración en la raíz es el proceso en el cual el agua se mueve en una planta desde la parte inferior de la raíz hasta la parte superior de la planta y luego se evapora en los poros de la hoja, el contaminante o una forma modificada es liberada por la planta a la atmósfera. Se puede utilizar para agua contaminada con mercurio, selenio, solventes clorados como tetraclorometano y triclorometano.

**Fitotransformación:** Las plantas captan, almacenan y transforman compuestos orgánicos para dar subproductos menos tóxicos o no tóxicos, en este proceso también intervienen microorganismos asociados a la planta. Ha sido utilizado en aguas residuales agropecuarias, municipales y contaminadas de TNT, DNT, RDN, nitrotolueno, nitrobenceno, atrazina, solventes clorados, DDT, plaguicidas fosfatados, fenoles y nitrilos.

**Rizofiltración:** Las raíces de la planta absorben los contaminantes presentes en el medio. Las raíces excretan químicos específicos que crean condiciones bioquímicas que precipitan y concentran los contaminantes a partir de efluentes contaminados y degradan los compuestos orgánicos. Se ha utilizado para tratar agua contaminada con cadmio, cobalto, cromo, níquel, mercurio, plomo, selenio, zinc, isótopos radioactivos y compuestos fenólicos <sup>[131,133-140]</sup>.



**Figura 10.** Mecanismos de Fitorremediación. (Fuente: Modificada de [141]).

### 1.6.2.1 Plantas Acuáticas

Las plantas acuáticas juegan un papel importante, ya que proveen comida y hábitat a peces y organismos acuáticos. Las plantas estabilizan sedimentos, mejoran la claridad del agua y agregan diversidad a las áreas poco profundas. Las plantas no nativas que se introducen en nuevos hábitats a menudo se convierten en obstáculos para los usos del agua y amenazan la estructura y función de diversos ecosistemas acuáticos nativos <sup>[142, 143]</sup>.

#### Tipos de plantas acuáticas

La definición literal de macrófitos es: plantas que se ven a simple vista. Las plantas acuáticas crecen parcial o totalmente en agua, tienen estructuras vegetativas (hojas, tallos y raíz). Los macrófitos acuáticos designan un grupo funcional de vegetales muy heterogéneo desde el punto de vista sistemático y evolutivo, que es considerado elemento clave en las cadenas tróficas de los ecosistemas acuáticos. Este grupo abarca conjuntos tan distintos como plantas vasculares acuáticas, briófitos, carófitos y algas filamentosas. Desde el punto de vista de su utilización como indicador biológico, se consideran buenos referentes de la calidad del agua, y proporcionan un valor indicador a medio y largo plazo. Son sensibles a variaciones físico-químicas e hidromorfológicas en las masas de agua, como por ejemplo la concentración salina, la eutrofización, el régimen de inundación, etc. Las modificaciones de estas variables pueden originar cambios cualitativos y cuantitativos en las comunidades

vegetales y en la estructura trófica de los ecosistemas entre otros. Pero no todos los macrófitos acuáticos tienen el mismo valor como elemento indicador. Dentro de un mismo género podemos encontrarnos con especies que indican características ecológicas del medio acuático muy diferentes <sup>[144-147]</sup>. Los macrófitos se encuentran en las áreas poco profundas de lagos o ríos. Esta línea poco profunda se llama zona litoral y es donde la luz penetra hasta el fondo para soportar el crecimiento de las plantas. Los macrófitos acuáticos como organismos fotosintéticos, necesitan que el agua esté transparente para que la luz llegue hasta sus cloroplastos. La intensidad de la radiación luminosa se reduce a medida que se incrementa la profundidad, lo cual da lugar a la distribución de los macrófitos en lagos, lagunas, ríos y estanques que tienen cierta profundidad <sup>[141, 144]</sup>.

Desde un punto de vista funcional, los macrófitos acuáticos pueden clasificarse en diversas categorías atendiendo a la relación de la especie con el medio en el que vive y a su forma de crecimiento (Figura 11):

❖ **Hidrófitos o macrófitos acuáticos en sentido estricto:** aquellas plantas que tienen todas sus estructuras vegetativas sumergidas o flotantes. Se incluyen en este grupo a plantas vasculares, algunos géneros de briófitos y las algas carófitas y filamentosas. Se encuentran enraizadas al sustrato o flotan libremente en el agua. Son los mejores indicadores del estado de su hábitat. Ejemplos: espigas de agua (todas las especies de *Potamogeton*), miriofilo (*Myriophyllum spicatum*), jopozorra (*Ceratophyllum demersum*), lentejas de agua (especies del género *Lemna*), nenúfares (*Nymphaea alba* y *Nuphar luteum*), etc. Este grupo se sub-divide en:

- I. Emergentes: necesitan un suelo húmedo o inundado temporalmente, están arraigadas en el sedimento con sus hojas extendiéndose sobre la superficie del agua. Entre las especies representativas figuran la *Phragmites australis*, *Typha latifolia*, *Illecebrum verticillatum*, *Schoenoplectus litoralis*, etc.
- II. De hoja flotante o plantas palustres: son vegetales que emergen de la superficie del agua, pero su parte basal y en algunos casos algunas hojas permanecen sumergidos. Se localizan en los bordos de las lagunas, charcas y zonas inundables; suelen tener un sistema de

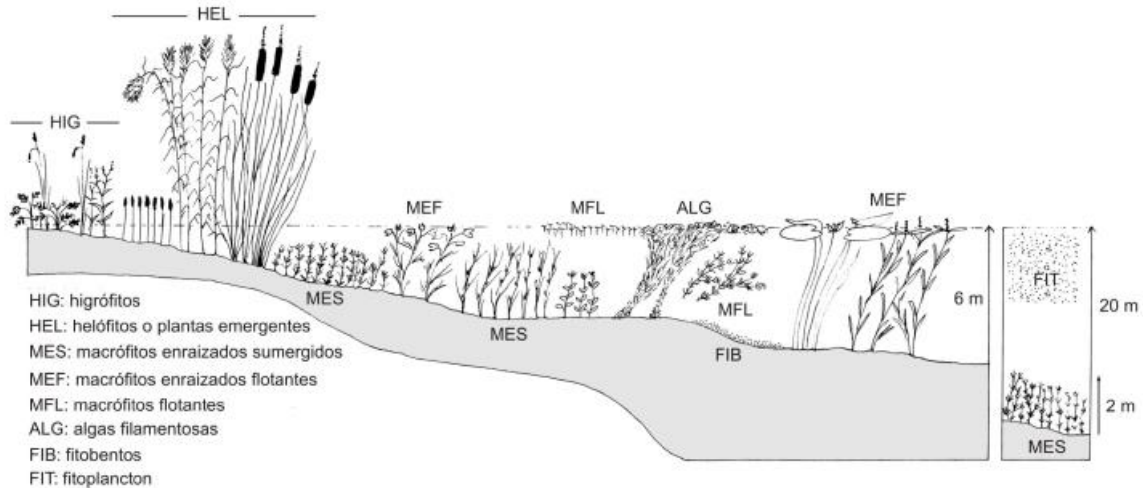
rizomas y estolones que permiten extender en la zona. Las plantas representativas son: *Phragmites australis*, *Bolboschoenus maritimus*.

III. Sumergidas: están arraigadas en el sedimento y habitan la franja más profunda de la zona litoral donde la penetración de la luz es suficiente para el crecimiento de la planta. Las plantas sumergidas crecen a través de la columna de agua y el crecimiento de la mayoría de las especies sumergidas ocurre enteramente dentro de la columna de agua, sin partes de la planta que emergen del agua. Las especies sumergidas *Zanichellia*, *Potamogeton lucens*.

IV. Las algas también crecen en los lagos y proporcionan la base de la cadena alimentaria. Las algas más pequeñas se llaman fitoplancton y son células microscópicas que crecen suspendidas en la columna de agua en todo el lago. Las algas filamentosas crecen como cadenas de células y pueden formar grandes cuerdas o esteras. Algunas algas filamentosas son flotantes y crecen suspendidas en la columna de agua, pero otras especies crecen adheridas a las plantas o al fondo del lago. Las algas macroscópicas o macrofíticas son grandes organismos verdes que parecen plantas sumergidas.

✿ **Helófitos:** plantas acuáticas de lugares encharcados con la mayor parte de su aparato vegetativo (hojas, tallos y flores) emergente. Se localizan en los bordes de las lagunas, charcas y zonas inundables no muy profundas. Suelen presentar un sistema de rizomas que permite la expansión subterránea de los individuos, que pueden colonizar rápidamente las áreas donde viven. Poseen un menor valor como indicadores de calidad del ecosistema que los hidrófitos. Ejemplos: carrizo (*Phragmites australis*), enea (*Typha domingensis*), junco de laguna (*Schoenoplectus lacustris*), castañuela (*Bolboschoenus maritimus*), junco florido (*Butomus umbellatus*), etc.

✿ **Higrófitos o plantas de borde:** plantas que se sitúan sobre suelos húmedos en los bordes de los humedales, y que suelen acompañar a los helófitos. Ejemplos: apio borde (*Apium nodiflorum*), berro (*Rorippa nasturtium-aquaticum*), etc. <sup>[148,149]</sup>.



**Figura 11.** Plantas acuáticas. (Fuente: [145]).

#### 1.6.2.2 *Myriophyllum aquaticum* (Vellozo) Verdecourt.

El género angiospermo *Myriophyllum* L. (Haloragaceae R. Br.), es uno de los más ricos en especies, es nativa de Sudamérica, sin embargo se ha encontrado en Australia, Estados Unidos, Asia, México, etc. y es conocida comúnmente como “Pluma de Loro”. Existen siete especies comunes siendo las más comunes: *M. spicatum* en Europa y *M. aquaticum* en Sudamérica; en América del norte se encuentran *M. heterophyllum*, *M. laxum*, *M. sibiricum*, de ellas, algunas especies se consideran híbridos y aunque es un organismo dioico, en la mayoría de los lugares solo son encontrados especímenes femeninos por lo que su reproducción es mediante fragmentación [150-151].

Habita humedales pocos profundos, corrientes de movimiento lento, reservorios o canales de irrigación, bordes de lagos, estanques o remansos; suelen agruparse en densas poblaciones que pueden impedir el movimiento del agua, lo que resulta en una mayor duración e intensidad de las inundaciones, aunque no se considera una hierba acuática nociva importante, puede causar problemas en otras especies acuáticas ya que impide el paso de luz [152-154].

*M. aquaticum* puede colonizar una diversidad de hábitats y tolerar condiciones de estrés, su crecimiento se ve afectado principalmente por la temperatura y la disponibilidad de luz. La

profundidad del agua no es un factor determinante en el crecimiento ya que se han encontrado colonias en cuerpos de agua de 100 cm hasta 2 m de profundidad <sup>[155]</sup>.

En la tabla 8 se muestra la taxonomía y nomenclatura de *Myriophyllum aquaticum*.

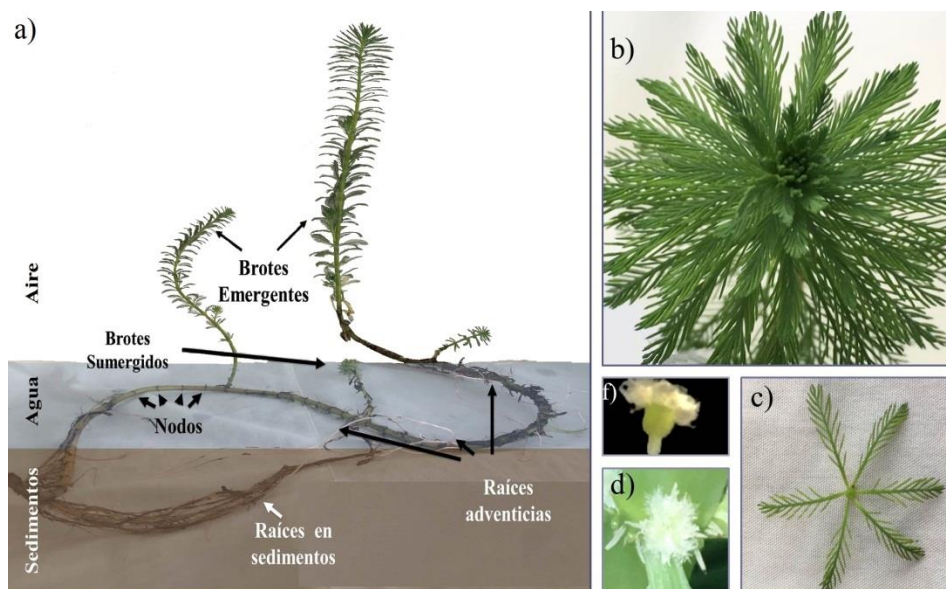
**Tabla 8.** Taxonomía y nomenclatura de *Myriophyllum aquaticum*.

Reino	Plantae
<b>Rango taxonómico</b>	Especies
<b>Sinónimos</b>	<i>Myriophyllum brasiliense</i> Cambess <i>Enydria aquatica</i> Vell. <i>Myriophyllum proserpinacoides</i> Gillies ex Hook & Arn.
<b>Nombre Comunes</b>	Pluma de Loro Mil hojas de agua brasileña
<b>Jerarquía Taxonómica</b>	
<b>Reino</b>	<i>Plantae</i>
<b>Sub-reino</b>	<i>Viridiplantae</i>
<b>Fracción</b>	<i>Streptophyta</i>
<b>Superdivisión</b>	<i>Embryophyta</i>
<b>División</b>	<i>Tracheophyta</i> - planta vascular
<b>Sub-división</b>	<i>Spermatophytina</i> - Fanerógamas
<b>Clase</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Super-orden</b>	<i>Saxifraganae</i>
<b>Orden</b>	<i>Saxifragales</i>
<b>Familia</b>	<i>Haloragaceae</i>
<b>Genero</b>	<i>Myriophyllum</i> L.
<b>Especie</b>	<i>Myriophyllum aquaticum</i> (Vell.) Verdc.

Fuente: [156]

*Myriophyllum aquaticum* tiene una morfología de hierba erecta perenne, rizomas resistentes, terete, 3-9 mm de diámetro con nodos prominentes y entrenudos, raíces adventicias que surgen en cada nodo. Tallo de 40-90 cm de largo, 4.0-5.0 mm de diámetro,

flexible, cilíndrico, glabro y de color verde. Los entrenudos inferiores 0.2-5.1 cm, son más largos que los superiores 0.1-0.3 cm. Las hojas son ligeramente dimórficas, se dividen en verticilos (segmentos filiformes) de 3-6, contorno oblanceolados, redondeadas en el ápice, de 3.1-4.0 cm de largo, de 0.6-1.1 cm de ancho, pectinadas, con 9-26 pinnas lineales de hasta 5.5 mm de largo; sus hojas emergentes tienen entre 3 – 6 verticilos, sus pinnas son lineares subyacentes, extremidades brevemente apicales, ligeramente curvadas. Las flores femeninas inconspicuas, nacen en las axilas de las hojas emergentes medias y superiores, su pedicelo es de 0.2 - 0.5 mm de largo. Bracteos blancos, subulados dilatados en la base, a veces con 1 lacinia, 0.5 - 1.5 mm de largo. Tiene cuatro sepales, blancos, deltoides, con un largo de 0.3 -0.5 mm y 0.1-0.3 mm de ancho, agudos, enteros o apenas serrados. Pétalos reducidos. Cuatro estilos, clavate de 0.1 - 0.2 mm de largo. Estigmas blancos, densamente fimbriados, ovario piriforme de 0.5 – 0.6 mm de ancho <sup>[157-160]</sup> (Figura 12).



**Figura 12.** a) Planta *M. aquaticum* completa, b) planta vista aérea, c) hojas, d) crecimiento axilar flores y f) flor. (Fuente: elaboración propia).

### ***Trabajos realizados con Myriophyllum aquaticum en el tratamiento de aguas residuales con compuestos orgánicos.***

Cano y colaboradores (2014) <sup>[161]</sup>, realizaron un estudio con aguas residuales industriales, la cual fue tratada mediante electrocoagulación con electrodo de hierro y fitorremediación con



*Myriophyllum aquaticum*, evaluaron biomarcadores de estrés oxidativo de la planta para averiguar su resistencia a la exposición de los contaminante recalcitrantes después del tratamiento. Con la electrocoagulación se logró reducir la DQO en un 42%, color 89% y la turbidez en un 95%; el método electroquímico produjo la eliminación parcial de contaminantes. El tratamiento acoplado redujo la DQO un 94%, el color en 97% y la turbidez un 98%. La exposición de *M. aquaticum* a las aguas residuales tratadas no tuvo un efecto significativo sobre la relación de clorofila a / b (2.84 + 0.24) ni tampoco sobre la actividad de las enzimas SOD, CAT y en los niveles de lipoperoxidación producida. Los resultados mostraron el potencial de *M. aquaticum* para eliminar los contaminantes de las aguas residuales pretratada ya que el sistema enzimático de las plantas no se vio afectada significativamente.

Schreiber y colaboradores (2013) <sup>[162]</sup> llevaron a cabo estudios para conocer la dinámica de los plaguicidas organoclorados (POC) y sus principales metabolitos en las aguas superficiales y las plantas del río Xanaes (provincia de Córdoba, Argentina) durante la temporada seca anual. Los resultados del estudio de seguimiento de 5 meses (de abril a agosto de 2010) mostraron niveles similares de baja contaminación en la montaña no agrícola y las zonas agrícolas, tanto en el agua y las plantas. Las concentraciones de los compuestos detectados en el agua de la superficie fueron menores a 4.5 ng L<sup>-1</sup>, mientras que las concentraciones de estas sustancias en *Myriophyllum aquaticum* fueron menores a 5 g kg<sup>-1</sup> (peso seco) con la excepción de trans-permetrina (17,6 g kg<sup>-1</sup>, peso seco). Además, las tendencias de concentración-tiempo para los COP en las plantas sumergidas mostraron un comportamiento de eliminación generalmente similar independiente de compuesto y el sitio de muestreo.

## 1.7 Biomarcadores

Regularmente la calidad del agua es monitoreada con la medición de sus propiedades fisicoquímicas y microbiológicas. Los análisis fisicoquímicos solo informan acerca de la naturaleza y concentración del contaminante en el ambiente, sin embargo, no predicen la biodisponibilidad o los efectos potenciales en la biota. Las pruebas ecotoxicológicas reflejan las condiciones reales de interacción por sinergia y/o antagonismo entre los contaminantes y los organismos <sup>[163-166]</sup>.

Un biomarcador es definido como una medida cuantitativa de un cambio molecular o en procesos de los componentes celulares, estructurales y funcionales relacionados con la exposición a químicos ambientales. Las plantas producen una gran variedad de metabolitos que son esenciales para mantener la vida vegetal a través de procesos metabólicos normales como la respiración y la fotosíntesis (metabolitos primarios) o no esenciales pero necesarios para la supervivencia en un ambiente dado (metabolito secundario). Los metabolitos primarios incluyen proteínas, lípidos, carbohidratos y clorofila. Los metabolitos secundarios representan compuestos que no están directamente involucrados en el crecimiento normal, en el desarrollo o en la reproducción de un organismo. Estos compuestos están principalmente implicados en la supervivencia y la fecundidad de una planta y se limitan a menudo a un estrecho conjunto de especies dentro de un grupo filogenético. Los metabolitos secundarios desempeñan un papel particularmente importante en la señalización y la defensa de las plantas <sup>[167, 168]</sup>.

Se han propuesto clases de biomarcadores de acuerdo con la medida en que reflejan la exposición a factores de estrés ambiental o efectos adversos para la salud derivados de exposiciones a contaminantes <sup>[169]</sup>. Los biomarcadores se clasifican de la siguiente manera:

- **Biomarcadores de exposición:** Una sustancia exógena, su metabolito o el producto de una interacción entre un agente xenobiótico y alguna molécula diana o celular que se mide en un compartimiento dentro un organismo. Estos tipos de biomarcadores también son conocido como "dosímetros biológicos" o biomarcadores de dosis interna, cuando miden el producto de la interacción con las moléculas objetivo, se consideran como "biomarcadores de dosis biológica efectiva" <sup>[170]</sup>.
- **Biomarcadores de efecto:** están relacionados con alteraciones bioquímicas, fisiológicas o de otro tipo medibles en tejidos o fluidos corporales de un organismo que pueden ser reconocidos como asociados con un deterioro o enfermedad establecida o posible. (HSP70 o HSP90), marcadores de estrés oxidativo [superóxido dismutasa (SOD), glutatión catalasa (CAT), peroxidación lipídica (LPO)], índices de condición (factor de condición, índice hepatosomático, índice

gonadal) y evaluación histopatológica, son ejemplos de biomarcadores de efectos biológicos <sup>[171]</sup>.

- **Biomarcadores de susceptibilidad:** se describe como "biomarcadores que integran la exposición química y los efectos biológicos". Es un indicador de una limitación inherente o adquirida en la habilidad de los organismos para responder a la exposición de una sustancia específica <sup>[171]</sup>.

En general, algunos biomarcadores permiten la identificación específica de la exposición a una clase de xenobióticos o alteraciones de la función fisiológica, pero la mayoría de las aplicaciones de biomarcadores monitorean una respuesta general a una alteración <sup>[172]</sup>. Sin embargo, es importante señalar que muchos factores no contaminantes pueden interferir con las respuestas de biomarcadores. Estos factores de "confusión" incluyen la salud de los organismos, el sexo, la edad, el estado nutricional, la actividad metabólica, el comportamiento migratorio, el estado reproductivo y de desarrollo y la densidad de población, así como factores como la estación, la temperatura ambiente y la heterogeneidad de la contaminación ambiental y así sucesivamente <sup>[167]</sup>.

### *1.7.1 Pigmentos Fotosintéticos*

Los pigmentos fotosintéticos, clorofilas y carotenos, son los principales foto-receptores de las plantas. La cadena de reacción de la asimilación de carbono fotosintético comienza con la absorción de la luz. Existe una estrecha relación entre el contenido de clorofilas y la capacidad fotosintética de las plantas. En cualquier especie de planta, el contenido absoluto de pigmentos y su relación no son constantes y pueden variar significativamente dependiendo de la intensidad, calidad de la luz, estructurales de la hoja, tales como su espesor, masa foliar específica y el número de cloroplastos por unidad de área foliar.

El contenido de clorofila en las hojas es un parámetro muy útil para evaluar el estado fisiológico de las plantas. Todas las hojas verdes presentan mayor capacidad de absorción en el rango de 400 - 700 nm, en donde sucede la transmisión de electrones entre clorofilas y carotenos. Los cambios cuantitativos y cualitativos en los índices del complejo de pigmentos en plantas son respuesta a factores causantes de estrés, a la capacidad fotosintética, al estado de desarrollo de la planta o a su adaptación <sup>[173-175]</sup>.

Las clorofilas son pigmentos fotosintéticos cuya estructura está constituida por un tetrapirrol cerrado con varios sustituyentes laterales. El anillo tetrapirrólico contiene un ión  $Mg^{2+}$  en el centro complejado con los nitrógenos de dicho núcleo y un sistema de dobles enlaces conjugados cuyos electrones son los responsables de la absorción de la radiación del espectro visible. En el anillo IV se encuentra unido el fitol, una cadena hidrocarbonada que forma un enlace éster con un propionilo del anillo. En las plantas existen dos tipos de clorofilas (a y b) que se diferencian en el sustituyente R en el ciclo II del anillo tetrapirrólico. Las clorofilas presentan máximos de absorción próximos a los 400 y 600 nm. Ninguna de ellas absorbe en el verde, lo que les da su color característico <sup>[176-178]</sup> (Figura 13).

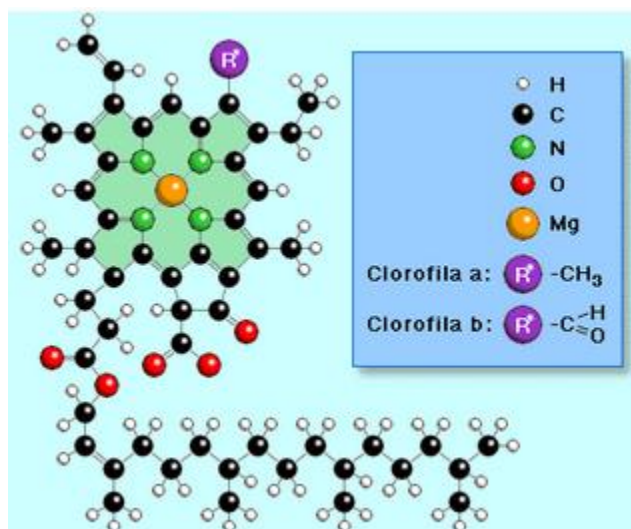


Figura 13. Estructura de Clorofilas. (Fuente: [178]).

Los carotenos son moléculas hidrocarbonadas de 40 átomos de carbono formados por ocho unidades isoprenoides unidas de forma que la secuencia se invierte en el centro de la molécula. Es decir, la unión de dichas unidades es “cabeza-cola”, excepto en el centro de la molécula, donde es “cabeza-cabeza”. Los carotenoides que participan en la fotosíntesis son de dos tipos: tipo **caroteno** y tipo **xantofila**. Los carotenoides tipo **caroteno** constan exclusivamente de carbono e hidrógeno. Los carotenoides tipo **xantofila** contienen oxígeno además de carbono e hidrógeno. El sistema conjugado de dobles enlaces es el responsable de la absorción de luz en el espectro visible. Su espectro de absorción muestra máximos de

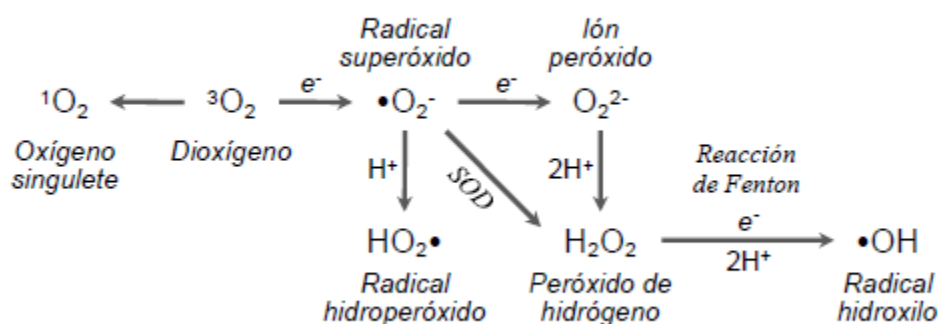
absorción entre los 450 nm y 500 nm, correspondientes al azul y al verde, por lo que la luz roja-naranja-amarilla que reflejan les proporciona su color característico [179,180].

### 1.7.2 Estrés oxidativo.

Independientemente del proceso de fitorremediación para que éste ocurra de forma eficiente, las plantas y microorganismos involucrados deben ser tolerantes al contaminante en particular [181]. Uno de los mecanismos a través del cual los organismos toleran la presencia de contaminantes, es la activación de sistemas de defensa que suprimen o eliminan especies reactivas de oxígeno (ERO). La producción celular de ERO es estimulada en respuesta a desbalances metabólicos generados por una condición de estrés que rompe la homeostasis celular. Una serie de factores bióticos y abióticos, entre ellos la presencia de contaminantes, modifica el equilibrio entre la producción y la eliminación de ERO e induce un fenómeno conocido como estrés oxidativo [182, 183].

El estrés oxidativo se define como el efecto tóxico provocado por especies químicas altamente reactivas producidas durante la reducción del oxígeno molecular ( $O_2$ ) en los organismos aerobios, que pueden ser o no radicales libres y se conocen como ERO. La reducción del  $O_2$  ocurre en varios pasos (Figura 14): la primera reducción produce radicales superóxido ( $\bullet O_2^-$ ) o hidroperóxido ( $HO_2\cdot$ ), de forma enzimática (por la superóxido dismutasa, SOD) o espontánea (mediante la pérdida de otro electrón), el  $\bullet O_2^-$  es dismutado a peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) que puede ser transformado al radical hidroxilo ( $\bullet OH$ ) por la reacción Fenton, o bien, eliminado por acción de catalasas o por el ciclo ascorbato - glutatión. El oxígeno singlete ( $^1O_2$ ) es otra ERO que no se relaciona con la transferencia de electrones, ya que es el primer estado excitado del  $O_2$ , producido por foto-activación. En las plantas, las ERO se producen en varios compartimentos celulares, principalmente en cloroplastos y mitocondrias, a través de la fuga de  $e^-$  de las cadenas transportadoras al  $O_2$ . Los cloroplastos son los principales productores de  $^1O_2$  en el fotosistema II y de  $\bullet O_2^-$  en el fotosistema I. La respiración mitocondrial también produce cantidades importantes de  $\bullet O_2^-$ . En el apoplasto, la actividad de oxidasas y peroxidasas es la principal fuente de  $\bullet O_2^-$ , mientras que en los peroxisomas la fotorespiración genera  $H_2O_2$  [184- 188].

Aunque todas las ERO son muy reactivas, cada una tiene propiedades diferentes y reacciona con diferentes moléculas. El  $\bullet\text{O}_2^-$  tiene un tiempo de vida media de 2- 4  $\mu\text{s}$  y aunque difícilmente reacciona con lípidos, puede inactivar enzimas con centros Fe-S. El  $\text{H}_2\text{O}_2$  es relativamente estable, su vida media es de alrededor de 1 ms, no reacciona fácilmente con lípidos, carbohidratos o ADN, pero puede inactivar enzimas mediante la oxidación de grupos tiólicos. El  $\text{HO}_2\bullet$  puede atravesar membranas y oxidar lípidos por la sustracción de protones de ácidos grasos poli-insaturados. El  $^1\text{O}_2$  tiene una vida media de 1  $\mu\text{s}$  y es particularmente reactivo con dobles enlaces conjugados como los de poli-insaturados y aminoácidos aromáticos. Las propiedades tóxicas del  $\bullet\text{O}_2^-$  y el  $\text{H}_2\text{O}_2$  aumentan en presencia de metales redox-activos ( $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Cu}^{2+}$ ), ya que forman el radical  $\bullet\text{OH}$  a través la reacción Haber-Weiss (Figura 14). El  $\bullet\text{OH}$  tiene una vida media de 1 ns, es la ERO más reactiva, reacciona rápidamente con todo tipo de macromoléculas y no hay un mecanismo enzimático que la elimine, por lo que su sobreproducción finalmente conduce a la muerte celular. En cualquier caso, si la concentración intracelular de ERO no es controlada, la consecuencia directa es el daño a estructuras celulares debido a la peroxidación de lípidos, oxidación de proteínas y componentes del ADN, así como a la interrupción de rutas metabólicas como la asimilativa del azufre [189-194].



**Figura 14.** Reducción del  $\text{O}_2$ . (Fuente: [192]).

### 1.7.2.1 Mecanismos de defensa antioxidante

Es claro que el incremento en la acumulación de ERO representa una amenaza, por lo que un estricto control en sus niveles es esencial para evitar su toxicidad celular y asegurar sus funciones de señalización, como son el control de la proliferación y muerte celular, la

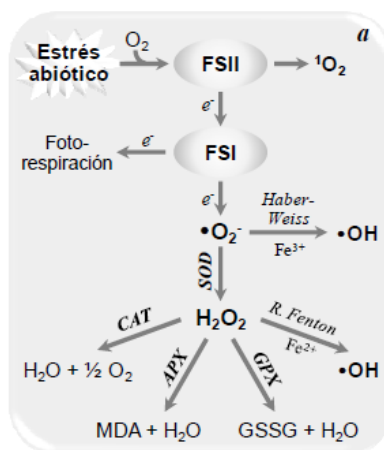
adaptación a factores de estrés abiótico y las respuestas al ataque de patógenos. Los niveles celulares de ERO son estrictamente regulados por una compleja red de defensa antioxidante, que incluye reacciones enzimáticas y moléculas amortiguadoras antioxidantes que, junto con las enzimas productoras de ERO, mantienen la homeostasis en todos los compartimentos celulares. Así, la red de defensa antioxidante actúa controlando las cascadas de oxidación y protegiendo a las células contra daños oxidativos. Esta defensa puede actuar (i) minimizando la producción de ERO; o (ii) eliminando las ERO producidas, reduciendo la posibilidad de un eventual daño celular (Figura 15).

**I. Minimización de la producción de ERO.** La primera línea de defensa contra el estrés oxidativo en plantas actúa reduciendo la producción de ERO mediante procesos como: (i) adaptaciones anatómicas y fisiológicas; (ii) mecanismos que reorganizan el aparato fotosintético o suprimen la fotosíntesis; (iii) acción de un grupo de enzimas llamadas oxidasas alternativas (AOX) que pueden desviar  $e^-$  que fluyen a través de las cadenas transportadoras durante la respiración y usarlos para reducir  $O_2$  a  $H_2O$ , evitando la formación de  $\bullet O_2^-$ ; (iv) prevención de la formación de  $\bullet OH$  mediante la eliminación de  $\bullet O_2^-$  y  $H_2O_2$  y/o el secuestro de iones que catalizan la reacción Haber-Weiss, por su unión a proteínas como ferritinas o metalotioneinas.

**II. Eliminación de ERO.** La eliminación de ERO actúa como una segunda línea de defensa, a través de la acción de moléculas antioxidantes y de varias enzimas que interactúan directamente con ERO y regeneran las formas reducidas de las moléculas antioxidantes mediante el ciclo ascorbato - glutatión.

Moléculas antioxidantes. En las células vegetales, los antioxidantes más importantes que regulan la homeostasis de ERO son el ascorbato (ASC) y el glutatión (GSH), además de taninos, flavonoides,  $\alpha$ - tocoferol, carotenoides y precursores de la lignina. Estas moléculas actúan como una red que, a través de una serie de reacciones redox, evita el daño por ERO. Los carotenoides y flavonoides neutralizan ERO como  $H_2O_2$ ,  $\bullet OH$  y  $^1O_2$ . El  $\alpha$ - tocoferol es el principal antioxidante liposoluble en las membranas fotosintéticas, donde elimina  $^1O_2$  y protege los lípidos contra peroxidación. Las plantas poseen un complejo sistema enzimático antioxidante en diferentes compartimentos celulares. Se ha reportado que entre 1 y 2% del

$O_2$  consumido por estos organismos conduce a la formación del radical  $\bullet O_2^-$ . La superóxido dismutasa (SOD) es la única enzima en las plantas que dismuta el  $\bullet O_2^-$  en  $H_2O_2$  y  $O_2$ . El  $H_2O_2$  puede ser directamente catabolizado por catalasas (CAT) o, en presencia de sustratos reductores, por varios tipos de peroxidasas, en el ciclo ascorbatoglutatin [195- 206].



**Figura 15.** Sistema de defensa en las plantas. (Fuente: [192]).

## 1.8 Bioensayos

Los ensayos biológicos son herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas; estos pueden ser tanto de inhibición como de magnificación, evaluados por la reacción de los organismos, tales como muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos. Los cambios pueden manifestarse a diferentes niveles, desde estructuras subcelulares o sistemas de enzimas, hasta organismos completos, poblaciones o comunidades. Los resultados de los bioensayos se refieren, en primer lugar, a los organismos usados en el ensayo y las condiciones estipuladas en el procedimiento de prueba. Un efecto nocivo evaluado por medio de ensayos biológicos normalizados puede indicar niveles de peligrosidad trasladables y asimilables a organismos que forman parte de los sistemas naturales [207].





## **Capítulo 2. Justificación, Hipótesis y Objetivos**

## 2.1 Justificación

La agricultura es una actividad productiva que tiene gran valor social, cultural y económico. Sin embargo, debido a las malas prácticas empleadas, la agricultura también propicia contaminación ambiental, esto es causado por una serie de elementos que contribuyen a la degradación de los suelos, cuerpos de agua, así como el aire. El inadecuado manejo y la toxicidad de las sustancias utilizadas por los agricultores, entre ellas los plaguicidas, provocan un impacto en la salud de las personas expuestas a ellos, así como en la fauna y flora.

En el caso particular del endosulfán, es un plaguicida que en México ha sido utilizado ampliamente como insecticida, el cual, por sus propiedades fisicoquímicas es considerado un compuesto orgánico persistente y en enero del 2015 las autoridades mexicanas revocaron los registros sanitarios de los productos que contengan endosulfán, y únicamente invitaron a las empresas a que voluntariamente retiraran los registros, sin embargo, no se prohibió el uso del producto vendido antes de esta fecha. Recientemente se ha reportado el uso de endosulfán en cultivo de papa en la cuenca del río Sanabria, Calimaya, Estado de México <sup>[208]</sup>, por lo que es necesario evaluar de qué manera es posible remover una mayor cantidad del compuesto en agua. De las tecnologías que se encuentran disponibles, los procesos electroquímicos han tenido grandes avances pero no han logrado ser eficientes al 100%, ya que algunos contaminantes permanecen después del tratamiento. Los procesos avanzados de oxidación como la ozonación y la electrooxidación se han evaluado de manera independiente para la remoción de endosulfán logrando obtener remociones mayores al 70% y la mayoría de los estudios solo evalúan la eficiencia en la degradación de los contaminantes, sin considerar el efecto que puedan tener los efluentes debido a todas las especies reactivas y oxidantes que se están generando en los procesos de tratamiento sus productos de degradación. En el presente trabajo se evaluó la sinergia de un proceso de electrooxidación con electrodos de diamante dopados con boro acoplado a un proceso de ozonación para la degradación de Thiodan® en agua, así como el efecto toxico de la solución tratada utilizando la macrófita *Myriophyllum acuaticum* y en *Lactuca sativa* L. Así mismo se valora la posibilidad de que *Myriophyllum acuaticum* se comporte como planta fitorremediadora por lo que también se determinó la tolerancia de la planta a la exposición del agua residual tratada.

## 2.2 Hipótesis

El empleo de un sistema acoplado de electrooxidación-ozonación logrará remover un mayor % de Thiodan® en agua que los tratamientos utilizados de manera individual y la solución tratada no generará efectos tóxicos en *Myriophyllum aquaticum*.

## 2.3 Objetivo General

Evaluar condiciones de operación de un sistema acoplado donde intervengan los procesos de electrooxidación con electrodos DDB y ozonación para la remoción de Thiodan® en agua, así como la tolerancia de *Myriophyllum aquaticum* a la solución después de ser tratada con el proceso acoplado de EO-O<sub>3</sub>.

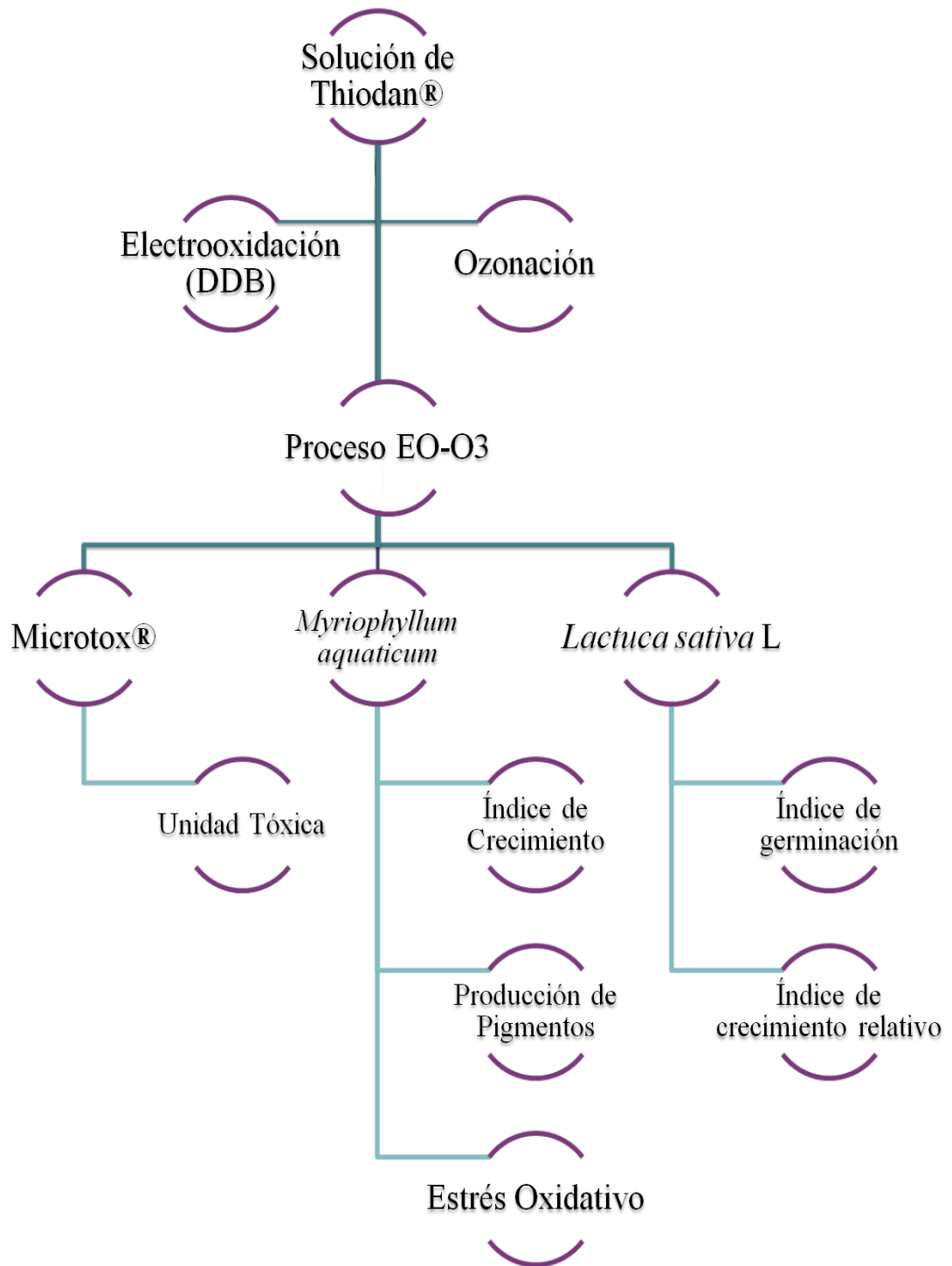
## 2.4 Objetivos específicos

1. Determinar las condiciones óptimas experimentales para el proceso de electrooxidación (pH, densidad de corriente y tiempo de reacción).
2. Determinar las condiciones óptimas experimentales para el proceso de ozonación (pH y tiempo de reacción).
3. Evaluar la eficiencia del proceso acoplado electrooxidación – ozonación.
4. Determinar las propiedades fisicoquímicas de la solución de Thiodan® antes y después del tratamiento EO-O<sub>3</sub>.
5. Realizar prueba de toxicidad Microtox® con la solución de Thiodan® tratada con los procesos de electrooxidación, ozonación y el proceso acoplado EO-O<sub>3</sub>.
6. Colectar y aclimatar *Myriophyllum aquaticum*.
7. Evaluar la tolerancia de *Myriophyllum aquaticum* a la solución de Thiodan® tratada con el proceso de EO-O<sub>3</sub>.
8. Realizar bioensayos de toxicidad con semillas de lechuga (*Lactuca sativa L*) con la solución de Thiodan® tratada con EO-O<sub>3</sub> antes y después de estar en contacto con *Myriophyllum aquaticum*.



## Capítulo 3. Metodología

En este apartado se describe la metodología utilizada en los experimentos realizados en esta tesis doctoral, en la figura 16 se muestra el diagrama de flujo.



**Figura 16.** Diagrama de flujo de la estrategia experimental

### 3.1 Solución de Endosulfán grado comercial Thiodan®.

Se trabajó con una solución de endosulfán grado comercial de la marca Thiodan® fabricado por Bayer Crop Science, el cual contiene no menos del 33% de endosulfán (equivalente a  $350 \text{ gL}^{-1}$ ) y no más de 67% de excipientes. La solución se preparó a una concentración de endosulfán de  $20 \text{ mgL}^{-1}$  en sulfato de sodio 0.1M (electrolito soporte). Los ajustes para el pH de la solución realizaron con NaOH 0.1 M y  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.1M. Todos los reactivos químicos utilizados fueron con pureza grado reactivo. En anexo 1 se presenta la hoja de seguridad del plaguicida.

### 3.2 Reactor de electrooxidación.

Para el proceso de electrooxidación se utilizó un reactor cilíndrico de vidrio tipo batch, con columna de flujo ascendente, un difusor con tamaño de poro de 0.2 mm y una capacidad de 1 L. Los electrodos de diamante dopado con boro están soportados en niobium, las dimensiones de cada electrodo son 20.0 cm por 2.5 cm con un área superficial de  $50 \text{ cm}^2$  (Figura 17 a) y la distancia entre cada electrodo fue de 1 cm (Figura 17 b). El volumen de la solución utilizado fue de 0.750 L. El proceso fue evaluado a valores de pH de 3, 5 y 7 y mediante una fuente de energía de corriente continua se suministró corriente eléctrica para obtener densidades de corriente de 20, 40 y  $60 \text{ mAcm}^{-2}$ . A determinados intervalos de tiempo se tomaron alícuotas para determinar la degradación del Thiodan®. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.



**Figura 17.** a) Vista de frente y b) vista lateral de los electrodos de Diamante Dopados con Boro.

### 3.3 Reactor de ozonación.

Los experimentos de ozono fueron realizados un reactor cilíndrico de vidrio tipo batch, con columna de flujo ascendente, un difusor con tamaño de poro de 0.2 mm y una capacidad de 1 L. El ozono se suministró mediante un generador de ozono marca Pacific Ozone Technology (Figura 18). El ozono se alimentó al reactor a través el difusor de gas en un flujo de  $0.05 \text{ Lmin}^{-1}$  y con una concentración de  $5 \pm 0.5 \text{ mgL}^{-1}$ . La determinación de ozono en fase líquida se describe en el anexo 2. El reactor fue conectado a un destructor de ozono con numero de modelo d.41202 para destruir el ozono que no reacciono en fase líquida. El proceso fue evaluado a valores de pH de 3, 5 y 7, el volumen de solución fue de 0.750 L. A determinados intervalos de tiempo se tomaron alícuotas para determinar la degradación del Thiodan®. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.



Figura 18. Generador de ozono marca Pacific Ozone Technology.

### 3.4 Proceso acoplado de electrooxidación- ozonación (EO-O<sub>3</sub>).

Para el proceso acoplado, los electrodos se instalaron en el reactor y se suministró el ozono. La densidad de corriente aplicada fue de  $60 \text{ mAcm}^{-2}$ , el pH inicial de la solución de Thiodan® fue de 3, se utilizaron 0.750 L de la solución y la concentración de ozono utilizada fue de  $5 \pm 0.5 \text{ mgL}^{-1}$  con un flujo de  $0.05 \text{ Lmin}^{-1}$ . La figura 19 muestra un esquema del proceso acoplado. A determinados intervalos de tiempo se tomaron alícuotas para determinar la degradación del Thiodan®. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.



**Figura 19.** Esquema del proceso acoplado de electrooxidación – ozonación.

### 3.5 Selección, colecta y aclimatación de la planta *Myriophyllum aquaticum*.

Las plantas fueron colectadas de la presa Ignacio Ramírez, (19°27'4"N 99°48'7"W), en el municipio de Almoloya de Juárez, Estado de México (figura 20a). Las plantas fueron llevadas al laboratorio y puestas en recipientes de plástico con agua potable y con medio nutritivo [209], la preparación del medio nutritivo MS se encuentra en el anexo 3. Las plantas se conservaron a temperatura ( $20 \pm 5^\circ\text{C}$ ), manteniendo un valor pH de 6.5 a 7.5 y expuestas a periodos naturales de luz y oscuridad (Figura 20b).



**Figura 20.** *Myriophyllum aquaticum* a) hábitat natural b) proceso de aclimatación laboratorio.

### 3.6 Tolerancia de *Myriophyllum aquaticum* a la solución tratada de Thiodan®.

Las pruebas de tolerancia se realizaron en contenedores de vidrio con capacidad de 4L, se utilizó un volumen de solución de Thiodan® tratada de 1.5 L, la cantidad promedio de biomasa fue de  $33 \pm 1$  g en cada sistema. El sistema control contenía agua potable (CP), los otros sistemas contenía solución tratada en concentraciones de 12.5, 25, 50, 75 y 100%. La



duración de la prueba fue por 14 días, observando las plantas cada día y recuperando el agua perdida por los procesos de evaporación y transpiración de la planta. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

### **3.7 Efecto del tiempo de reposo de la solución tratada de Thiodan® en *Myriophyllum aquaticum*.**

Las pruebas se realizaron con las mismas condiciones de contenedores, volumen de la solución y biomasa que en la prueba anterior. La solución de Thiodan® tratada con el proceso acoplado de EO-O<sub>3</sub> se dejó reposar por 0, 24, 48 and 72 h antes del exponer las plantas. Los sistemas contenían solución tratada al 50% y el sistema control contenía agua potable. La duración de la prueba fue de 5 días, observando las plantas cada día y recuperando el agua perdida por los procesos de evaporación y transpiración de la planta. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

### **3.8 Efecto de las especies generadas durante el proceso acoplado EO-O<sub>3</sub> en *Myriophyllum aquaticum*.**

La prueba fue realizada con las mismas condiciones de volumen de la solución y cantidad de biomasa de las pruebas anteriores. Se evaluaron 5 sistemas, electrolito soporte (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 M) sin tratamiento (SEWOT), electrolito soporte (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 M) con tratamiento (SEWT), solución de Thiodan® sin tratamiento (STWOT), solución de Thiodan® con tratamiento (STWT) y una mezcla de solución Thiodan® sin tratamiento + electrolito soporte con tratamiento (STWOT + SEWT). Los sistemas contenían solución al 50% con un tiempo de reposo de 24 h y el sistema control contenía agua potable (CP). La duración de la prueba fue de 5 días, observando las plantas cada día y recuperando el agua perdida por los procesos de evaporación y transpiración de la planta. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

### 3.9 Técnicas analíticas.

Determinación de demanda química de oxígeno (DQO).

Los compuestos orgánicos en agua pueden ser monitoreados midiendo la DQO. Este parámetro se define como el número de equivalentes de oxígeno requeridos para oxidar químicamente la materia orgánica existente en el agua, se expresa en  $\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ . El método empleado tradicionalmente de acuerdo a American Publish Health Association para obtener el valor de la DQO es en el cual se utiliza como agente oxidante dicromato de potasio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ), y el sulfato de plata ( $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ ) como catalizador para la oxidación de los compuestos orgánicos. Dado que en el medio se pueden encontrar sustancias inorgánicas susceptibles de oxidación las cuales provocan interferencias, se adiciona sulfato de mercurio ( $\text{HgSO}_4$ ) como inhibidor de haluros, sulfuros, sulfitos, etc. Todo esto se lleva a cabo bajo condiciones ácidas ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) y a una temperatura de  $150^\circ\text{C}$  durante 120 min. Posteriormente el tubo se deja enfriar a temperatura ambiente y se mide el valor de la DQO en un espectrofotómetro Hach DR 5000 <sup>[210-213]</sup>.

Carbono orgánico total (COT).

El carbono orgánico total indica la eliminación completa de los contaminantes debido a su transformación a dióxido de carbono. El seguimiento se realizó mediante un analizador TOC-L Shimadzu Total Organic Carbon analyzer. La medida se basa en la combustión completa de la muestra con una corriente de oxígeno puro a una temperatura de  $680^\circ\text{C}$ , en un horno que contiene un catalizador de platino soportado en alúmina. El dióxido de carbono generado por la oxidación se detecta mediante un analizador de gases infrarrojo y se relaciona directamente con el carbono presente en la muestra. Para la medida del carbono inorgánico, se acidifica la muestra mediante la adición de ácido fósfórico al 10%, con lo que se consigue el desplazamiento del equilibrio de carbonatos y bicarbonatos hacia ácido carbónico. De nuevo la liberación del dióxido carbono, se mide mediante infrarrojo, una vez conocidas las medidas de carbono total y carbono inorgánico, el valor de COT se obtiene por diferencia de los anteriores <sup>[55, 214]</sup>.

La eficiencia en la remoción de DQO y COT en los diferentes proceso, se calcularon mediante la ecuación (3.1).

$$E = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100 \quad (3.1)$$

donde E es la eficiencia de remoción de DQO o COT en %,  $C_0$  es el valor inicial de DQO o COT ( $\text{mgL}^{-1}$ ) en la solución de Thiodan® y  $C_t$  es el valor inicial de DQO o COT ( $\text{mgL}^{-1}$ ) al tiempo  $t$  después de que la solución de Thiodan® estuvo en reacción en los diferentes procesos.

#### Prueba toxicidad aguda de MICROTOX®.

La prueba se basa en monitorear los cambios en el nivel de emisión de luz de un bacteria luminiscente marina (*Vibrio fischeri*) cuando se expone a una sustancia tóxica. La prueba fue expresada en términos de Concentración Efectiva 50% ( $EC_{50}$ ) y se realizó mediante la técnica estandarizada de MICROTOX®<sup>[215]</sup>, utilizando un analizador Model 500 analyzer y el software MicrotoxOmni<sup>[216, 217]</sup>. Para comprender mejor el nivel de toxicidad que presentaba cada solución tratada por los diferentes procesos, se utilizó la Unidad Tóxica (UT), la cual busca establecer la toxicidad de un compuesto mediante la  $CE_{50}$ . La UT fue calculada mediante la ecuación (3.2).

$$UT = \left( \frac{1}{CE_{50}} \right) 100\% \quad (3.2)$$

UT es adimensional y es una toxicidad relativa y se clasifica en 4 categorías:  $UT < 1$  (no tóxico), UT entre 1-10 (tóxico), UT entre 10-100 (muy tóxico) and  $UT > 100$  (extremadamente tóxico)<sup>[218]</sup>.

#### Voltamperometría cíclica

La voltamperometría cíclica es una técnica ampliamente utilizada en el estudio de reacciones de oxidación/reducción, detección de productos intermedios de reacción y en la observación de reacciones de seguimiento de productos formados en los electrodos. En este tipo de voltamperometría, el potencial aplicado se barre primero en una dirección y luego en la otra mientras se mide la corriente, los voltamperogramas que se obtienen son característicos y dan información de las propiedades electroquímicas individuales de los sistemas redox<sup>[219,220]</sup>.

Las voltamperometrías cíclicas de la solución de Thiodan® tratada con el proceso acoplado EO-O<sub>3</sub> a diferentes tiempos de reacción se realizó con una celda estándar de tres electrodos. Los voltamperogramas se generaron mediante un potenciostato Autolab AUT 83582 y el software GPES Manager versión 4.9. Un electrodo de pasta de carbón fue utilizado como electrodo de trabajo, la superficie del electrodo fue pulida después de cada determinación. La velocidad de escaneo fue de 100 mVs<sup>-1</sup> utilizando un electrodo de referencia de Ag/AgCl y un contraelectrodo de grafito. La voltamperometría se obtuvo iniciando el escaneo en dirección positiva.

#### Cromatografía iónica para cuantificación de cloruros

La cromatografía de intercambio iónico es un método que permite la separación de moléculas basada en sus propiedades de carga eléctrica. El principio básico de la cromatografía de intercambio iónico es que las moléculas cargadas se adhieren a los intercambiadores de forma reversible de modo que dichas moléculas pueden ser asociadas o disociadas cambiando el ambiente iónico. La separación mediante intercambiadores iónicos se realiza por lo general, en dos fases: en la primera las sustancias a separar se unen al intercambiador utilizando condiciones que originan una unión fuerte y estable; a continuación, se eluye por la columna con buffers de diferentes pH o diferente fuerza iónica, compitiendo los componentes del buffer con el material por los sitios de unión <sup>[219]</sup>.

La concentración de cloruros fue determinada mediante un cromatógrafo iónico marca AQUION con software chromeleon 7. Las condiciones cromatográficas fueron una columna Dionex IonPac AS11-HC (4 x 250 mm), la fase móvil fue 30 mM NaOH, con flujo de 1.5 ml/min, una corriente aplicada de 112 mA y una temperatura de 30°C.

#### Producción de biomasa

Para calcular el porcentaje de la tasa de crecimiento relativo (TCR), cada planta utilizada se midió y peso antes y después de cada tratamiento. El porcentaje de la TCR fue calculado con la ecuación (3.3):

$$\% TCR = (\ln W_1 - \ln W_0) / (t_1 - t_2) * 100 \quad (3.3)$$

donde  $W_1$  y  $W_2$  son la longitud y peso inicial y final de cada planta y  $t_1 - t_2$  es el intervalo de tiempo del experimento <sup>[221]</sup>.

#### Espectrometría UV-Vis para determinación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, pigmentos y Estrés Oxidativo

La espectrometría describe la interacción entre la radiación, principalmente la electromagnética y la materia. Toda radiación electromagnética está caracterizada por una longitud de onda ( $\lambda$ ), una frecuencia ( $\nu$ ) o una energía ( $E$ ). El fundamento de la espectrometría se debe a la capacidad de las moléculas para absorber radiaciones, entre ellas las del espectro UV-visible (195-400 nm para el UV cercano y 400-780 nm el visible), el efecto de la radiación electromagnética sobre la materia son las transiciones electrónicas entre los orbitales atómicos y moleculares. Cuando la radiación incide sobre una sustancia, sólo un átomo o conjunto de átomos son capaces de absorber la radiación, estos grupos se denominan cromóforos. Una especie química absorbe UV-Vis y la energía adquirida por el sistema causa la transición de un electrón de un estado basal a uno excitado. La energía de la transición está relacionada con la ecuación de Planck (3.4).

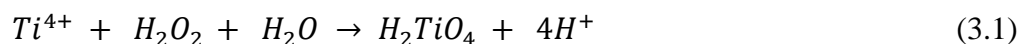
$$E = h\nu = hc/\lambda \quad (3.4)$$

Donde  $E$  es la energía transportada por cuanto de radiación o fotón (J fotón<sup>-1</sup>),  $h$  es la constante de Planck ( $6.6256 \times 10^{-34}$  J s fotón<sup>-1</sup>),  $c$  es la velocidad de la luz ( $2.9979 \times 10^8$  m s<sup>-1</sup>),  $\lambda$  es la longitud de onda (m),  $\nu$  es la frecuencia de la radiación (s<sup>-1</sup>).

La representación de la respuesta del sistema en función de la longitud de onda o frecuencia se denomina espectro y en él se observa que los átomos dan como señal línea agudas, mientras que las moléculas poliatómicas dan señales en forma de bandas. Los espectros permiten identificar algunos grupos funcionales presentes en la molécula y, por otro lado, estimar concentraciones de una sustancia, mediante una curva de calibración donde se cumpla la Ley de Lambert-Beer <sup>[219, 222]</sup>.

La concentración H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generado fue determinado por el método de Eisenberg utilizando un espectrofotómetro UV-Vis de la marca Perkin Elmer Model Lambda 25 UV/Vis. El método se basa en la medición espectrométrica de las intensidades de color de las soluciones que contienen peróxido de hidrógeno, tratadas con un reactivo de sulfato de titanio, la

coloración amarilla es producida por la formación de ácido pertánico, mediante la reacción (3.1) <sup>[223]</sup>.



La concentración de pigmentos se realizó después de exponer las plantas a los sistemas. Se pesó 0.344 g de biomasa, se macero con 5 mL de una solución hidróxido de amonio y acetone al 80% en relación 1:9, posteriormente la muestra se refrigeró durante 2 h. Después de este tiempo, 5 mL de acetona al 80% fueron adicionados. Las muestras fueron homogenizadas y centrifugadas a 3200 rpm durante 20 min, posteriormente se tomaron 2 mL del sobrenadante y se adicionaron 8 mL de acetona al 80%. La solución se mezcló y fue analizada para clorofila a (668 nm), clorofila b (640 nm) y carotenos (470 nm) en un espectrofotómetro UV/Vis Genesys brand Model 10S Thermo <sup>[224]</sup>. Todas las pruebas se realizaron por triplicado. Las ecuaciones para determinar los pigmentos se muestran a continuación (3.5), (3.6) y (3.7)

$$\text{mg mL}^{-1} (\text{clorofila a}) = (12.7 * \text{Abs } 663) - (2.69 * \text{Abs } 645) \quad (3.5)$$

$$\text{mg mL}^{-1} (\text{clorofila b}) = (22.9 * \text{Abs } 645) - (4.68 * \text{Abs } 663) \quad (3.6)$$

$$\mu\text{g mL}^{-1} (\text{carotenos}) = (3.775 * \text{Abs } 470) - (0.21 * \text{clorofila b}) \quad (3.7)$$

### 3.10 Biomarcadores de estrés oxidativo

#### Extracción de enzimas

Se pesaron 500 mg de biomasa y se homogenizaron con 5 mL de la solución de extracción de enzimas (ver anexo 4). Las muestras se centrifugaron a 13,500 rpm a 4°C por 20 min. El sobrenadante fue empleado para determinar el estrés oxidativo.

#### Contenido de Proteínas

La concentración de proteínas se determinó empleando el método de Bradford <sup>[225]</sup>, extrapolando las absorbancias obtenidas en una curva de albúmina sérica bovina en un intervalo de concentración de 0.05 a 1 mg mL<sup>-1</sup> (ver anexo 5).

### Nivel de lipoperoxidación (LIPOX)

Se cuantificó por el método de Buege y Aust <sup>[226]</sup> (ver anexo 6), que se basa en la determinación de la concentración de malondialdehído (MDA), producto final de la lipoperoxidación (ver anexo 2). Los cálculos se realizaron con la ecuación (3.8)

$$[MAD] = \frac{A}{CEM} \quad (3.8)$$

donde A es la absorbancia, CEM es el coeficiente de extinción molar del MAD cuyo valor es  $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , los resultados son expresados en nmoles de MAD \* mg de proteína<sup>-1</sup>.

### Superóxido dismutasa (SOD)

SOD se determinó por el método de Misra y Fridovich <sup>[227]</sup> (ver anexo 7), el cual se fundamenta en la inhibición de la autooxidación de la adrenalina por parte de la enzima SOD a pH 10.2. Los cálculos se realizaron de acuerdo a la ecuación (3.9)

$$[SOD] = (A_{30s} - A_{5min}) + \left(\frac{A_0}{CEM}\right) \quad (3.9)$$

donde  $A_0$ ,  $A_{30s}$  y  $A_{5min}$  son las absorbancias obtenidas a los 0, 30 segundos y 5 minutos respectivamente, CEM es el coeficiente de extinción molar de la adrenalina cuyo valor es  $21 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , los resultados son expresados en  $\mu\text{moles de SOD} * \text{mg de proteína}^{-1}$ .

### Catalasa (CAT)

CAT se cuantificó por el método de Aebi <sup>[228]</sup> (ver anexo 8), el fundamento de la técnica se basa en la desaparición del  $\text{H}_2\text{O}_2$  por acción de la enzima. Los cálculos se realizaron mediante la ecuación (3.10).

$$[H_2O_2] = \frac{(A_{0s} - A_{60s})}{CEM} \quad (3.10)$$

donde  $A_{0s}$  y  $A_{60s}$  son las absorbancias obtenidas a los 0 y 60 segundos respectivamente, CEM es el coeficiente de extinción molar del peróxido de hidrógeno cuyo valor es  $0.043 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , los resultados son expresados en  $\mu\text{moles de H}_2\text{O}_2 * \text{mg de proteína}^{-1}$ .

### **3.11 Bioensayos con *Lactuca sativa L***

El bioensayo de toxicidad con semillas de lechuga (*Lactuca sativa L*) en la que se pueden evaluar los efectos fitotóxicos de compuestos puros o de mezclas complejas en el proceso de germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. La evaluación del efecto en la elongación de la radícula y del hipocotilo de las plántulas permite ponderar el efecto tóxico de compuestos solubles presentes en niveles de concentración tan bajos que no son suficientes para inhibir la germinación, pero que sin embargo pueden retardar o inhibir completamente los procesos de elongación de la radícula o del hipocotilo, dependiendo ello del modo y sitio de acción del compuesto. De esta manera, la inhibición en la elongación de la radícula e hipocotilo constituyen indicadores subletales muy sensibles para la evaluación de efectos biológicos en vegetales, aportando información complementaria a la proporcionada al estudiar el efecto en la germinación. Este ensayo puede ser aplicado para la evaluación de la toxicidad de compuestos puros solubles, de aguas superficiales (lagos, ríos), aguas subterráneas, aguas para consumo humano, aguas residuales domésticas e industriales, además de lixiviados de suelos, sedimentos, lodos u otras matrices sólidas<sup>[207]</sup> (ver anexo 8).

### **3.12 Análisis Estadístico.**

El análisis estadístico se realizó mediante el software especializado Minitab 17. La significancia de las diferencias entre los valores de las medias de cada prueba fue determinada por análisis de varianza de una vía (ANOVA), de acuerdo a Dunnett con un  $p < 0.05$  para comparar el efecto de la exposición de las soluciones sobre la TCR, la clorofila y las actividades enzimáticas en relación con un control.





## **Capítulo 4. Resultados y Discusión**

En el apartado 4.1 se muestra el primer artículo generado a partir de los resultados obtenidos en la primera parte experimental, donde se evaluaron las condiciones óptimas, en términos de pH y densidad de corriente para la eliminación de Thiodan® en agua, cuando se utiliza el proceso de electrooxidación utilizando electrodos BDD y el proceso de ozonación de manera individual y de manera acoplada. El artículo fue publicado en la revista FUEL, que tiene un factor impacto de 4.7 y se encuentra indizada en ISSN: 0016-2361.

En el apartado 4.2 se encuentra la carta de recepción del segundo artículo, por parte del editor de la revista International Journal of Environmental Science and Technology donde fue enviado para ser evaluado y el artículo con los resultados de la segunda parte experimental donde se muestra la evaluación fisicoquímica y toxicológica del proceso acoplado de Electrooxidación-Ozonización para la degradación de Thiodan® en agua, así como la tolerancia de la macrofito *Myriophyllum aquaticum* a la solución después del tratamiento del proceso acoplado. Este artículo fue enviado a la revista, cuyo factor de impacto es de 1.9 y está indizada en ISSN: 1735-1472 (Print) y 1735-2630 (Online). El proceso para la publicación se encuentra en espera de recibir comentarios por parte de los editores.

En el apartado 4.3 se muestra los resultados no publicados, los cuales corresponden a el consumo de energía del proceso de electrooxidación, así como el costo del mismo, evaluado a las diferentes densidades de corriente aplicada que fueron utilizadas.

## 4.1 Artículo publicado

Fuel 198 (2017) 91–98



Contents lists available at ScienceDirect

Fuel

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/fuel](http://www.elsevier.com/locate/fuel)

Full Length Article

## Evaluation of a coupled system of electro-oxidation and ozonation to remove the pesticide Thiodan® 35 CE (endosulfan) in aqueous solution

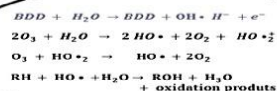
Claudia Rosales Landeros<sup>a</sup>, Carlos E. Barrera Díaz<sup>a,\*</sup>, Araceli Amaya Cháves<sup>b</sup>, Gabriela Roa Morales<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEM – UNAM, Carretera Toluca-Atacomulco, km 14.5, Unidad El Rosedal, C.P. 50200 Toluca, Estado de México, Mexico  
<sup>b</sup> Facultad de Química, UAEMex. Paseo Colón intersección Paseo Tollocan S/N, C.P. 50120 Toluca, Estado de México, Mexico

## HIGHLIGHTS

- 60% less reaction time is required to remove endosulfan using a coupled process.
- The process synergy enhances the rate and extent of removal of COD, TOC and toxicity.
- The cyclic voltammograms indicate that an oxidation process takes place in reaction.
- A major advantage is that no chemicals are added in the process.
- This technology is sustainable since no sludge is produced as a reaction residue.

## GRAPHICAL ABSTRACT



## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 22 April 2016

Received in revised form 13 September 2016

2016

Accepted 3 October 2016

Available online 6 October 2016

## Keywords:

Electrooxidation

Ozonatio

Endosulfan

COD

TOC

Microtox

## ABSTRACT

This research shows the results of the coupling of two advanced oxidation processes for the degradation of pesticide Thiodan® in water. Electrooxidation process with diamond electrodes doped with boron (BDD) alone removed 97% of COD in 100 min of reaction time. Furthermore, the process of ozonation only removed 77% removal of COD, in the same reaction time. However, when the processes are coupled, the % COD removal was achieved 95% with 40 min reaction time and the TOC decreased a 94%. With the coupled process practically the COD and TOC of the solution of Thiodan® was removed and MICROTOX® test showed that after 30 min of reaction the sample was not exhibit toxicity. The cyclic voltammograms obtained with the coupled process, indicate the oxidation of Thiodan®.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## 1. Introduction

Pesticides are chemical compounds which are used to eliminate pests in households and agriculture. Conversely, these chemical compounds are some of the most toxic, environmentally mobile

and stable substances in the environment [1]. The mobility of pesticides in aquatic systems can easily reach the human population since conventional water treatment plants are unable to eliminate pesticides, due to their chemical stability [2,3]. Organochlorine pesticides have been extensively used over the last century; some of the common characteristics are: they have a cyclic structure, chlorine atoms are normally present, they are lipophilic, their volatility is low and are resistant to degradation [4–6]. Endosulfan

\* Corresponding author.

E-mail address: [cbd0044@gmail.com](mailto:cbd0044@gmail.com) (C.E. Barrera Díaz).<http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2016.10.031>

0016-2361/© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

(6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5 $\alpha$ , 6,9,9 $\alpha$ -hexahydro-6,–9 methano-2,3,4-benzodioxathiepin-3-oxide) is a cyclodiene organochloride insecticide, which is known by its broad spectrum of activity. The main use of this pesticide is in crops, such as: broccoli, cereals, coffee, cotton, ornamental flowers and oilseeds [7,8]. This pesticide is persistent in the environment with an estimated half-life up to 6 years, such characteristic makes it persistent in the atmosphere, surface and ground water, sediment and food stuffs [9–11].

Two isomers ( $\alpha$  and  $\beta$ ) in the ratio 7:3 constitute the commercial endosulfan [12]. These isomers can be degraded via sulfur oxidation or by hydroxylation of the sulfite moiety to form endosulfan sulfate, which is as toxic and persistent as the original compound [13–15]. Some physico-chemical properties of  $\alpha$  endosulfan,  $\beta$  endosulfan and endosulfan sulfate are shown in Table 1 [16,17].

In order to degrade and remove pesticides from water various innovative technologies have been proposed, these technologies has showed good results, but it is important to consider the operation conditions for obtain high efficiencies, minimum cost and to prevent the formation of more hazardous products. Among these technologies, the Advanced Oxidation Processes (AOP) constitutes an emergent method for the degradation of pesticides. The advantages of electrochemical technologies rely on the use of a clean reagent, “the electron”. The process can be carried out under conditions of ambient temperature and atmospheric pressure, they are very useful for refractory contaminants that resist other treatment methods and they are used to treat contaminants at very low concentration (eg ppb). However, some of the limitations are that these processes are at the lab-scale stage and for the technology to be scaled up, many improvements are required to make them cost-effective but they can become dominant in the near future, especially for the abatement of refractory substances [18–20,38].

AOP rely on the hydroxyl radical formation which reacts rapidly and usually indiscriminately with most organic compounds.

HO $\cdot$  radicals reactions takes place by different ways: (i) double bonds attack, (ii) by H-atom abstraction, which yields carbon centred radicals and (iii) HO $\cdot$  radical gets an electron from an organic substituent. Carbon centred radicals can react with oxygen to form organic peroxy radicals. Peroxy radicals reacts among themselves and lead to ketones or aldehydes and/or carbon dioxide [21].

In this study the electrochemical and ozone methods were used to produce HO $\cdot$  radicals. In the case of electrochemical process the HO $\cdot$  radicals production takes place on the surface of electrodes. Boron doped diamond (BDD) electrodes have high anodic stability, a wide working potential window, and low stable voltammetric background current in aqueous media, which make them ideal for electrooxidation processes [22–25].

Certain parameters must be considered to have a successful process, among them the pH, current density, and the temperature. However, a previous study reported that an increase in temperature does not increase the rate of oxidation and the formation of oxidizing species different to HO $\cdot$  [20] was not observed.

On the other hand ozone has a high oxidation standard potential ( $E^\circ$  2.1 V) and a major advantage is that it does not produce secondary pollution, since it decomposes into oxygen. Ozone is unstable in water and undergoes reactions with some water matrix components. However, the unique feature of ozone is its decomposition into HO $\cdot$  radicals [26]. The ozonation process involves the direct reaction with organic and dissolved inorganic substances at low pH, but can also react indirectly due to radical decomposition HO $\cdot$  (primarily at high pH), which react immediately with solutes [27].

Nevertheless, the main drawback of this technology is the mass transfer limitations from pollutants contained in wastewater to the anode surface. In order to overcome this limitation, new research is required to improve the efficiencies attain by single treatment. In this way, the ozone provide HO $\cdot$  radicals in solution for the removal of organics. This technology combined with electrochemical treatment allows generating higher concentrations of free radicals in the system. Thus, the main aim of the study is to present the optimal conditions, in terms of aqueous pH and current density for Thiodan® removal when an integrated electrooxidation using BDD electrodes and ozone process are used. This process is an attractive alternative since HO $\cdot$  radicals are produced in high concentrations in water, thus maximizing reaction rate and eliminating sludge production.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Chemicals

Endosulfan formulation is commercially available as Thiodan®, which contains not less than 33% of endosulfan (equivalent to 350 g/L Endosulfan) and not more than 67% of excipients, it was purchased from Bayer Crop Science.

Thiodan® solution was prepared to have an endoufan initial concentration of 20 mg L $^{-1}$ .

In most studies of pesticides degradation using this technology, a solution is prepared with a higher concentration than that found in surface or groundwater, although the mass transfer can be a limitation, it has been observed that the degradation of an organic compound with different concentrations presents the same trends over four ranges of concentration, without significant variations, indeed, Rodrigo and co-workers concluded that this behavior takes place and can be extrapolated from high to low concentrations [18].

All chemicals used in the experiments were analytical pure grade and used without further purification. pH of the solutions were adjusted by adding small amounts of diluted NaOH and H $_2$ SO $_4$  solutions. Na $_2$ SO $_4$  0.1 M was used as support electrolyte, it was purchased from Reasol.

### 2.2. Electrooxidation reactor

A batch cylindrical electrochemical reactor was set up for the electrochemical process. The reactor cell contains a pair of BDD

**Table 1**  
Physico-chemical properties of  $\alpha$  endosulfan,  $\beta$  endosulfan and endosulfan sulfate.

Properties	$\alpha$ -endosulfan	$\beta$ -endosulfan	Endosulfan sulfate
Water solubility pH 5, 25 °C, mg/L	0.33	0.32	0.22
Henry constant atm m $^3$ /mol, 25 °C	$1 \times 10^{-5}$	$1.91 \times 10^{-5}$	$2.61 \times 10^{-5}$
Vapor pressure at 25 °C mm Hg	$1 \times 10^{-5}$	$1 \times 10^{-5}$	$1.0 \times 10^{-11}$
Log. octanol-water partition coefficient (Kow) pH 5.1	3.83	3.62	3.66
Log. octanol-air partition coefficient (Koa)	10.29	10.29	5.18
Log. octanol-carbon partition coefficient (Koc)	3.5	4.1	No data
Dissociation constant	No determined (without acid protons)	No determined (without acid protons)	No determined (without acid protons)
T $_{1/2}$ water (days)	25 y 128		123–391
LD $_{50}$ rats (mg/kg)	76	240	160

electrodes (BDD film supported on a niobium substrate), each electrode was 20.0 cm by 2.5 cm with a surface area of 50 cm<sup>2</sup> and an electrodes gap of 1 cm [28–31]. Batch volumes of 0.750 L were treated in the 1.00 L reactor. A direct-current power source supplied the system with current densities of 20, 40 and 60 mA/cm<sup>2</sup>. The process was evaluated at different pH values of 3, 5 and 7. Thiodan® solution was prepared to have an endoulfan initial concentration of 20 mg L<sup>-1</sup>. All tests were conducted by triplicate.

### 2.3. Ozonation reactor

The ozone experiments were conducted in a 1.0 L up flow glass bubble column reactor and the treated reaction volume was 0.750 L. Ozone was supplied by a Pacific Ozone Technology generator. The ozone was fed into the reactor through a gas diffuser at the bottom of the reactor. The ozone was fed at a rate of 0.05 L min<sup>-1</sup> using a gas diffuser of 0.2 mm pore size situated at the reactor bottom. The quantification of the ozone liquid phase was performed by indigo spectrophotometric method [32]. In acidic solution, ozone rapidly discolours indigo. The decrease in absorbance is proportional to the increased concentration and the proportionality constant is at 600 nm is 0.42 ± 0.01/cm/mg/L ( $\Delta\epsilon = 20000 \mu\text{cm}$  compared to the UV absorption of pure ozone  $\epsilon = 2.90 \mu\text{cm}$  258 nm). For determining the ozone to the ozone generator output, the calibration curve was constructed by preparing a stock solution with 770 mg of potassium thiosulfate indigo and 1 mL of concentrated phosphoric acid and graduated to 1 L. An indigo reagent was prepared with 100 mL stock solution, 10 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> and 7 ml of phosphoric acid to 1 L of solution. An ozonation process of deionized water was performed and samples were taken at specific time intervals. The concentration was calculated as shown in Eq. (1)

$$\text{O}_3 \text{ mg L}^{-1} = \frac{100\Delta A}{f \times b \times V} \quad (1)$$

where

$\Delta A$ : Absorbance  $t_0$  - Absorbance  $t_1$ ;

$b$ : light path cuvette (1 cm);

$V$ : Sample volume (9 mL);

$f$ : factor (0.42).

It was found that the average amount of produced ozone was 5 mg L<sup>-1</sup>.

The ozone that not reacts in the liquid phase gas conducted in tube pipe at the top of the reactor and decomposed by an ozone destructor Model No. d41202. The process was evaluated to different pH values 3, 5 and 7. Thiodan® solution was prepared to have an endoulfan initial concentration of 20 mg L<sup>-1</sup>. All test were conducted by triplicate.

### 2.4. O<sub>3</sub>-electrochemical coupled process

For the combined system the pair of BDD electrodes from the electrooxidation reactor was installed in the ozone reactor (Fig. 1). Thiodan® solution was prepared to have an endoulfan initial concentration of 20 mg L<sup>-1</sup> in the supporting electrolyte, current density applied was 60 mA cm<sup>-2</sup>, pH initial was 3, the volume was 0.750 L and the ozone concentration was 5 ± 0.5 mg L<sup>-1</sup>. Treated samples were taken at the same intervals of time and were analyzed in the same way that the individual treatments. All test were conducted by triplicate.

### 2.5. Methods of analysis

Chemical Oxygen Demand (COD) and Total Organic Carbon (TOC) were determined using the American Publish Health Association [32], standard procedures, using a Hach DR 5000 and TOC-L Shimadzu Total Organic Carbon analyzer, respectively.

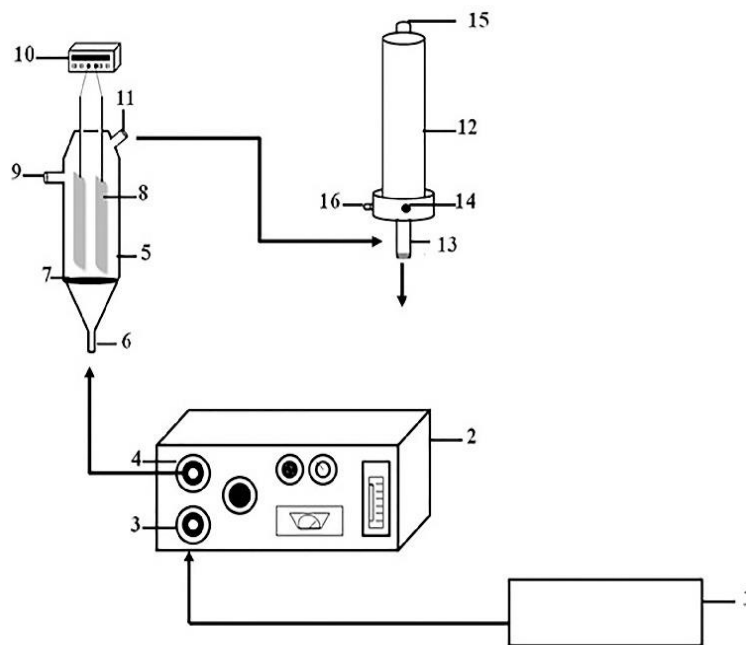


Fig. 1. Scheme of O<sub>3</sub>-electrochemical coupled process. (1) Air generator, (2) ozone generator, (3) air input, (4) ozone generated output, (5) up-flow glass bubble reactor, (6) ozone input, (7) gas diffuser, (8) boron - doped diamond electrodes, (9) sample output, (10) power supply, (11) residual ozone output, (12) heated catalytic ozone destructor, (13) residual ozone input, (14) heater ON indicator light, (15) ozone destroyed output and (16) power connection.

Acute toxicity measurement was performed by MICROTOX<sup>®</sup>. This assay is a biosensor based on the luminescence inhibition of *Vibrio fischeri* (*Photobacterium phosphoreum*). The test were expressed as Effective Concentration 50% (EC<sub>50</sub>) and were performed through standard MICROTOX<sup>®</sup> test (UNI EN ISO 11348-3), using a Model 500 analyzer and MicrotoxOmni software [33–35]. The Toxicity Unit (TU) was recommended and it was calculated as shown in Eq. (2)

$$TU = \left( \frac{1}{EC_{50}} \right) 100\% \quad (2)$$

TU is unitless and it is relative toxicity classified into four categories: TU < 1 (non toxic), TU between 1 and 10 (toxic), TU between 10 and 100 (very toxic) and TU > 100 (extremely toxic) [36].

The cyclic voltammetry of Thiodan<sup>®</sup> solution at different times of coupled treatment were performed using a standard three-electrode cell. The waveforms were generated by Autolab AUT 83582, software GPES Manager version 4.9. A carbon paste electrode used as working electrode, the surface of electrode was renewed through light polishing after each potential scan. The scan rate was 100 mV s<sup>-1</sup> with an Ag/AgCl reference electrode and platinum counter electrode. The cyclic voltammetry was obtained by starting the potential scan in the positive direction.

The COD removal efficiency (%) at the different processes was calculated as shown in Eq. (3).

$$E = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100 \quad (3)$$

where E is the COD removal efficiency (%), C<sub>0</sub> is the initial value of the COD (mg L<sup>-1</sup>) in the Thiodan<sup>®</sup> solution and C<sub>t</sub> is the value of COD (mg L<sup>-1</sup>) at time t after the different processes.

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Electrooxidation treatment

##### 3.1.1. Effect of pH

Fig. 2 shows the effect of pH on the initial electrodegradation of Thiodan<sup>®</sup>. As can be observed the initial pH in the aqueous solution has no significant effect on the amount of the COD removal. The COD decrease in 67%, 61% and 60% for pH 3, 5 and 7, respectively.

As a consequence of the high oxidation power of the BDD anode, commonly the mineralization process is independent of the nature of the organic species being degraded, in this way, contrasting our results with a previous report in which picloram was used, it was

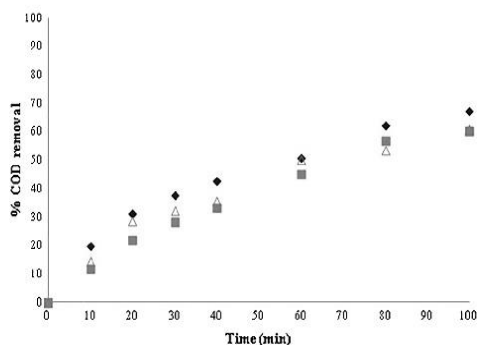


Fig. 2. Effect of pH (◆) pH 3, (■) pH 5 and (△) pH 7 on the % COD removal as a function of electrolysis time (min). Electrolysis conditions: 20 mA cm<sup>-2</sup>, 20 mg L<sup>-1</sup> of endosulfan solution (Thiodan<sup>®</sup>), 0.75 L, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 M.

noticed that a similar independence of pH behavior is obtained, indeed they conclude that the pH of the solution had not significant effect on pollutant removal rate [37]. Brillas et al. demonstrated that is possible obtain the complete mineralization of compounds such as pesticides and drugs with the anodic oxidation with BDD. Their experiments demonstrated that the removal of pollutants is practically pH-independent, but depend on the pesticides concentration and current density. They reported that persistent organic compounds are mainly destroyed by reaction with HO<sup>•</sup> produced at BDD surface [38].

In the case of endosulfan molecule, it has not a pK<sub>a</sub> value, in all pH interval, the same molecule is present. The pH effect was studied for evaluated the generation of OH<sup>•</sup>. The adsorbed OH<sup>-</sup> generated on the electrode surface by water oxidation of a high O<sub>2</sub>-overvoltage at acid media, it describe in Eq. (4) [31,39]:



or hydroxide ion at pH ≥ 10, Eq. (5)



The results suggest that at pH values studied there is no variation in the generation of hydroxyl radicals.

##### 3.1.2. Effect of current density

Different current densities were applied to investigate this effect on the electrochemical degradation of Thiodan<sup>®</sup> (endosulfan 20 mg L<sup>-1</sup>) in Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 M. Fig. 3 shows that the COD removal increases as a function of electrolysis time and the removal rate increased when the applied current density is raised. The COD removal after 100 min of electrolysis was 67%, 92% and 97% for 20 mA cm<sup>-2</sup>, 40 mA cm<sup>-2</sup> and 60 mA cm<sup>-2</sup>, respectively. The results indicated that current density is a key parameter on the COD removal.

The same effect was observed by Solano et al., they reported the degradation of organic material from real textil industrial effluent by electrooxidation BDD at the same current densities used in this study (20, 40 and 60 mA cm<sup>-2</sup>), they noticed that the color removal efficiency significantly increased as a function of current density [40].

Panniza and co-workers reported that increasing the current density increases the removal rate. They mention that the current density is an important parameter because the BDD can oxidize organic compounds in the potential region of water discharge, in this zone the hydroxyl radicals are generated. At a potential lower than the water discharge, it is produced a deactivation of anode surface with a deposition of a polymeric film. In their study they

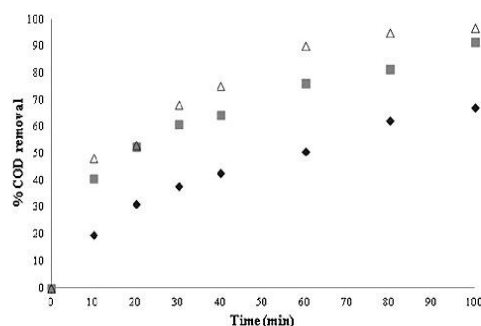


Fig. 3. Effect of current density (◆) 20 mA cm<sup>-2</sup>, (■) 40 mA cm<sup>-2</sup> and (△) 60 mA cm<sup>-2</sup> on the % COD removal as a function of electrolysis time (min). Electrolysis conditions: pH 3, 20 mg L<sup>-1</sup> of endosulfan solution (Thiodan<sup>®</sup>), 0.75 L, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 M.

observed that increasing the current density increases the removal rate, due to higher generation of hydroxyl radicals [41].

### 3.1.3. Kinetics of degradation

The COD removal rate of pesticides can be represented by the following linear- pseudo - first - order Eq. (6) as described by Errami et al. [23]

$$\frac{d(\text{COD}_0)}{d(\text{COD}_t)} = kt \quad (6)$$

The integrated form is Eq. (7):

$$\text{Ln} \frac{\text{COD}_0}{\text{COD}_t} = kt \quad (7)$$

where  $\text{COD}_0$  and  $\text{COD}_t$  are the COD of the solution at the beginning and at time  $t$  respectively, and  $k$  is the observed pseudo first-order rate constant. Rate constants can be determined by plotting the  $\text{Ln}(\text{COD}_0/\text{COD}_t)$  against time at different applied current density as shown in Fig. 4.

The electrodegradation rate depends on the current density, this suggests a greater oxidation ability of BDD anode increasing the current density applied due to the production of more electro-generated active oxidant  $\cdot\text{OH}$  [39].

In the oxidative process at BDD several series/parallel steps may be involved, the first process takes place at the electrode surface when organic compounds are oxidized directly, the second process occurs at the same time, with the generation of hydroxyl radicals by decomposition of water molecules, which are able to oxidize the organic compounds, this process can occur in either one stage or multiple stages, and it proceeds until the final oxidation product is generated (usually carbon dioxide). The third process due to hydroxyl radicals is not stable, the formation of other oxidants (ozone, hydrogen peroxide, peroxodisulphate, chlorine, etc.) is possible, which can in turn react chemically with the organic matter through mediated oxidation processes or, alternatively, can promote the formation of oxygen. If these oxidant compounds reach the bulk zone, it is necessary to take into account their mass transfer process and the oxidation of the organics in the bulk zone [20,42].

Table 2 shows the effect of the current density on the values of the rate constant for COD removal.

It is interesting to note that the process can be faster (three times) when the current density used is  $60 \text{ mA cm}^{-2}$ .

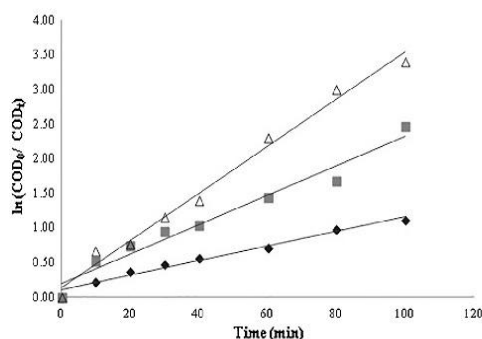


Fig. 4. Kinetic of % COD removal of Thiodan® solution at different applied current density (♦)  $20 \text{ mA cm}^{-2}$ , (■)  $40 \text{ mA cm}^{-2}$  and (Δ)  $60 \text{ mA cm}^{-2}$ . Electrolysis conditions: pH 3,  $20 \text{ mg L}^{-1}$  of endosulfan solution (Thiodan®),  $0.75 \text{ L}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0.1 \text{ M}$ .

Table 2  
Rate constant for COD removal at different applied currents density.

pH	Current density ( $\text{mA cm}^{-2}$ )	Rate constant ( $\text{min}^{-1}$ )	$R^2$
3	20	0.0106	0.9781
	40	0.0212	0.9636
	60	0.0341	0.9880

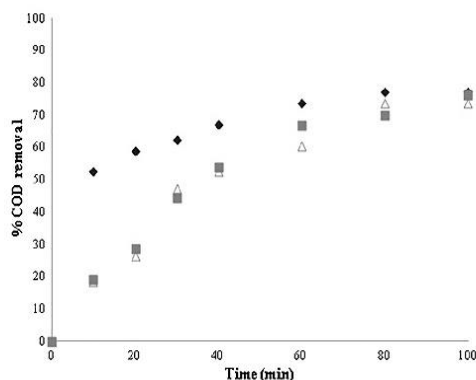


Fig. 5. Effect of pH (♦) pH 3, (■) pH 5 and (Δ) pH 7 on the % COD removal from the solution as a function of ozonation time (min). Ozonation conditions: ozone concentration  $5 \pm 0.5 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $20 \text{ mg L}^{-1}$  of endosulfan solution (Thiodan®),  $0.750 \text{ L}$ .

## 3.2. Ozonation treatment

During the ozonation treatment of the endosulfan solution, the COD was monitored as a function of treatment time. As shown in Fig. 5 COD reduction was 77%, 76% and 74% for pH 3, 5 and 7, respectively after 100 min of treatment time. Note that, no significant difference between pH 3, 5 and 7 is observed.

A previous study, reported that, during the degradation of aqueous solution of alpha endosulfan by ozonation there are not significant differences between pH 4–7 and the highest oxidation rate (94% removal) was obtained at pH 4 [43]. Conversely, in a study conducted by Begum and Gautam [44] the effect of initial pH was studied, they found that a 99% degradation of endosulfan was observed at pH 12.

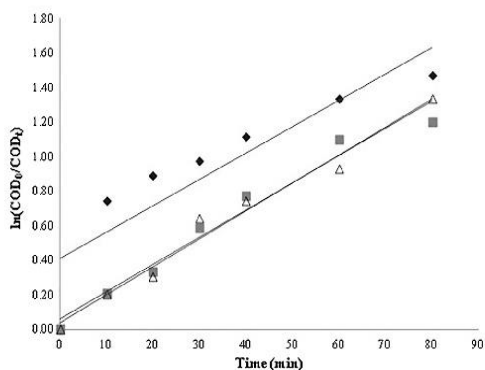
As earlier discussed, the pH reaction plays an important role in the degradation of pollutants using ozonation. At low pH, the predominant reaction mechanism is the direct electrophilic attack by molecular ozone. At high pH, ozone decomposes in water to form  $\text{HO}\cdot$  radicals which are stronger oxidizing agents than molecular ozone, thus inducing the so-called indirect ozonation. Indirect ozone oxidation is non-selective, faster and is favored under alkaline conditions. Both reaction mechanisms lead either to mineralization or to transformation of organics by formation of products with higher oxygen content [45].

With data obtained in this study from the degradation of Thiodan® by ozonation at pH 7 and lower values, it can be concluded that the oxidation of Thiodan® is conducted mainly by direct reaction of ozone.

### 3.2.1. Kinetics of degradation

Fig. 6 shows the COD removal rate of pesticides which can be represented by the following linear- pseudo - first - order (Eq. (7)).

The observed rate constant values for the set of kinetics performed indicating that the highest rate constant was observed at pH 7. Table 3 shows the effect of the pH value on the rate constant for COD removal.



**Fig. 6.** Kinetic of COD removal of Thiodan® solution (endosulfan) at (◆) pH 3, (■) pH 5 and (△) pH 7 at ozonation treatment. Ozonation conditions: ozone concentration  $5 \pm 0.5 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $20 \text{ mg L}^{-1}$  of endosulfan solution (Thiodan®),  $0.750 \text{ L}$ .

**Table 3**

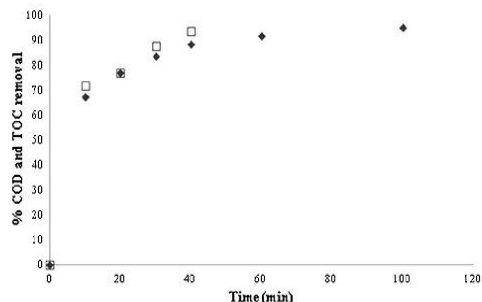
Rate constant for COD removal at different pH values.

O <sub>3</sub> concentration	pH	Rate constant $k$ (min <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
$5 \pm 0.5 \text{ mg L}^{-1}$	3	0.0153	0.801
	5	0.0157	0.968
	7	0.0162	0.978

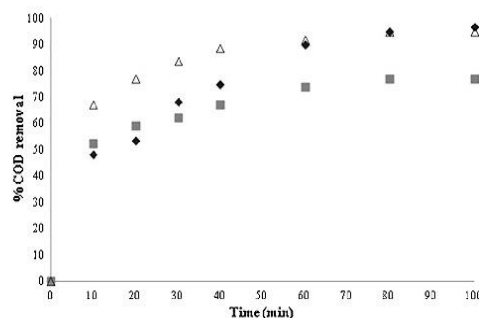
Enjarlis et al. showed that pesticides degradation by ozonation followed a pseudo first order kinetic, with similar values as reported in Table 2 [46]. As a selective oxidant, O<sub>3</sub> reacts rapidly with organic compounds containing electron rich functional groups, such as phenols, amines, olefins, activated aromatic compounds and sulfur containing compounds. Therefore, micropollutants containing can be eliminated efficiently during ozonation [47,48].

### 3.3. Electrochemical - O<sub>3</sub> coupled process

Fig. 7 shows the effect of coupling electrooxidation and ozonation processes in the COD and TOC reduction as a function of treatment time for Thiodan® aqueous solution. After 40 min of treatment, the % COD removal was 89% and % TOC removal was 94%. The results suggest that the coupled process not only reduces to Thiodan®, also mineralizes it.



**Fig. 7.** % COD (◆) and % TOC removal (□) as a function of coupled treatment time. Electrolysis conditions: pH 3,  $20 \text{ mg L}^{-1}$  of endosulfan solution (Thiodan®),  $0.75 \text{ L}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0.1 \text{ M}$  and Ozonation conditions: ozone concentration  $5 \pm 0.5 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $20 \text{ mg L}^{-1}$  of endosulfan solution (Thiodan®).



**Fig. 8.** % Removal of COD treatment function of time for three different processes (◆) Electrooxidation, Electrolysis conditions: pH 3,  $20 \text{ mg L}^{-1}$  of endosulfan solution (Thiodan®),  $0.75 \text{ L}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0.1 \text{ M}$  and  $60 \text{ mA cm}^{-2}$ , (■) Ozonation, Ozonation conditions: ozone concentration  $5 \pm 0.5 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $20 \text{ mg L}^{-1}$  of endosulfan solution (Thiodan®), and (△) Coupled, Electrolysis conditions: pH 3,  $20 \text{ mg L}^{-1}$  of endosulfan solution (Thiodan®),  $0.75 \text{ L}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0.1 \text{ M}$  and  $60 \text{ mA cm}^{-2}$ , Ozonation, Ozonation conditions: ozone concentration  $5 \pm 0.5 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $20 \text{ mg L}^{-1}$  of endosulfan solution (Thiodan®).

Fig. 8 shows a comparative graph of % COD removal as a function of treatment time for three treatments. After 100 min of reaction, a 95% of COD is achieved when the coupled process is used. Similar removal, about 97%, can be achieved when the electrochemical process is used, but 50% more process time is required. For ozonation process the maximum reduction is only about 77%. These results show that the coupled process degrades faster the Thiodan® present in aqueous solution.

### 3.4. MICROTOX® analysis

The use of the Microtox® test has many advantages, such as: rapid exposure (15 min), only requires a small volume of sample, various sample types and testing matrices and it is accepted worldwide as an effective toxicity test.

The Microtox® test was performed for sample of Thiodan® with an endosulfan concentration of  $2.5 \text{ mg L}^{-1}$  without treatment, the result of EC<sub>50</sub> was 9.62% and TU was 10. This result indicates that the sample with a lower concentration that the concentration evaluated in each treatment, is toxic. For electrochemical process sample the EC<sub>50</sub> could not be determined with dilutions established on regulation because after 30 min of reaction time, the sample showed a high toxic effect; conditions were the electrooxidation pH 3,  $20 \text{ mg L}^{-1}$  of endosulfan solution (Thiodan®),  $0.75 \text{ L}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0.1 \text{ M}$  and current density  $60 \text{ mA cm}^{-2}$ . On the other hand, ozonation process sample, the EC<sub>50</sub> was 7.46% and TU was 13, in this case the sample was classified as very toxic, the ozonation conditions were ozone concentration  $5 \pm 0.5 \text{ mg L}^{-1}$ , pH 3,  $20 \text{ mg L}^{-1}$  of endosulfan solution (Thiodan®), solution volume  $0.75 \text{ L}$ . However, when the coupled electrochemical - O<sub>3</sub> process sample was analyzed, it did not show toxicity, the conditions in the process were pH 3,  $20 \text{ mg L}^{-1}$  of endosulfan solution (Thiodan®),  $0.75 \text{ L}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0.1 \text{ M}$ , current density  $60 \text{ mA cm}^{-2}$  and ozone concentration  $5 \pm 0.5 \text{ mg L}^{-1}$ . It is important to remember that the Thiodan® solution had an endosulfan concentration initial of  $20 \text{ mg L}^{-1}$  for each treatment. Thus, the combined process not only reduces COD and TOC, it also gives a toxicity free solution, which makes it a clean technology.

### 3.5. Cyclic voltammetry

Fig. 9 shows the voltammograms of Thiodan® solution prior and after the application of the coupled treatment. As can be observed,



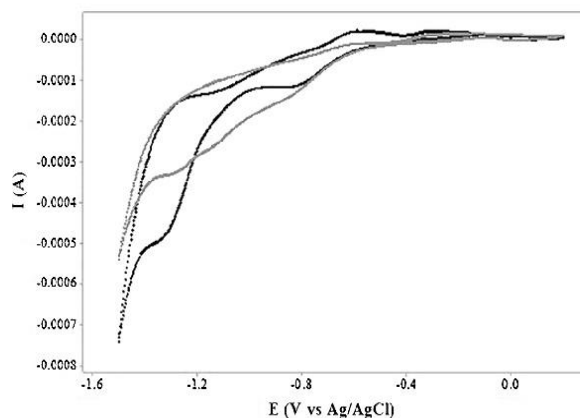


Fig. 9. Cyclic voltammograms of Thiodan® solution at a scan rate of 100 mV s<sup>-1</sup> (•) before and (●) after coupled process.

these results show a peak oxidation in the Thiodan® solution without treatment. It should be noted after 30 min of reaction with the coupled treatment, the oxidation peak disappears.

Gurumalleshá Prabu et al. studied a determination of endosulfan by voltammetry, in conditions similar to those used in this study. They found that endosulfan shows an anodic plateau and the cyclic voltammogram is similar to that obtained by us [49].

#### 4. Conclusions

The efficiency of an electrochemical, ozonation and couple system was tested on the Thiodan® oxidation reaction. Among the studied variables, it can be concluded that the initial pH of Thiodan® solution does not significantly affect the percentage of COD removal when either electrooxidation or ozonation process is applied. Nevertheless, in both cases the highest removal percentage was achieved at pH 3. The applied current density increases the COD removal rate in the electrochemical oxidation process. The highest removal percentage was achieved at 60 mA cm<sup>-2</sup>. The coupled process Electrooxidation-O<sub>3</sub> increases the effectiveness in the removal of COD as compared with electrooxidation and ozonation treatments. In the case of TOC removal, the coupled process showed a considerable decrease after 40 min of treatment time. This result is consistent with the cyclic voltammogram obtained. Another advantage that showed the coupled process is that after 30 min of reaction the solution does not show toxicity, this is due to the mineralization of Thiodan® and possible degradation products generated during the coupled process as evidenced by the TOC. Finally, the comparison of the here reported results allows to conclude that the Electrooxidation - O<sub>3</sub> coupled process is advantageous compared with any single processes for Thiodan® degradation.

#### Acknowledgements

The authors wish to acknowledge the support given by the Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable, UAEM-UNAM, Centro Interamericano de Recursos del Agua UAEM, MCA Ana Elisa Alcántara Valladolid are gratefully acknowledged for granting access to apparatus needed of MICROTOX® test and financial support from the CONACYT through the project 153828 is greatly appreciated.

#### References

- [1] Fenik J, Tankiewicz M, Biziuk M. Properties and determination of pesticides in fruits and vegetables. *TrAC Trends Anal Chem* 2011;30(6):814–26.
- [2] Rocha JB, Gomes MS, dos Santos EV, de Moura EM, da Silva DR, Quiroz MA, et al. Electrochemical degradation of Novacron Yellow C-RG using boron-doped diamond and platinum anodes: direct and indirect oxidation. *Electrochim Acta* 2014;140:419–26.
- [3] Sharma S, Pathak H. Basic techniques of phytoremediation. *Int J Sci Eng Res* 2014;5(4):584–605.
- [4] Zhao W, Li J, Wu T, Wang P, Zhou Z. Determination of organochlorine pesticides in snow water samples by low density solvent based dispersive liquid–liquid microextraction. *J Sep Sci* 2014;37(18):2599–604.
- [5] Wilson WW, Onyenwe W, Bradner JM, Nennig SE, Caudle WM. Developmental exposure to the organochlorine insecticide endosulfan alters expression of proteins associated with neurotransmission in the frontal cortex. *Synapse* 2014;68(11):485–97.
- [6] Rondinini S, Minguzzi A, Vertova A. Organic pollutants for wastewater treatment. In: Kreysa G, Savinell RF, Ken-ichi O, editors. *Reductive dechlorination*. New York: Encyclopedia of Applied Electrochemistry; 2014. p. 1398–402.
- [7] Romero AM, Tovar SE, Sánchez SE, Mussali GP, Sánchez MJC, Castrejón GML, et al. *Penicillium* sp. as an organism that degrades endosulfan and reduces its genotoxic effects. *SpringerPlus* 2014;3(1):1–11.
- [8] Delpuech JM, Bussod S, Amar A. The sublethal effects of endosulfan on the circadian rhythms and locomotor activity of two sympatric parasitoid species. *Chemosphere* 2015;132:200–5.
- [9] Harikumar PS, Jesitha K, Sreechithra M. Remediation of endosulfan by biotic and abiotic methods. *J Environ Prot* 2013;4:418–25.
- [10] Shah NS, He X, Khan HM, Khan JA, O'Shea KE, Boccelli DL, et al. Efficient removal of endosulfan from aqueous solution by UV-C/peroxides: a comparative study. *J Hazard Mater* 2013;263:584–92.
- [11] Mukherjee I, Kumar A. Phytoextraction of endosulfan a remediation technique. *Bull Environ Contam Toxicol* 2012;88(2):250–4.
- [12] Kaur R, Rani S, Malik AK, Aulakh JS. Determination of endosulfan isomers and their metabolites in tap water and commercial samples using microextraction by packed sorbent and GC–MS. *J Sep Sci* 2014;37(8):966–73.
- [13] Kataoka R, Takagi K, Sakakibara F. A new endosulfan-degrading fungus, *Mortierella* species, isolated from a soil contaminated with organochlorine pesticides. *J Pestic Sci* 2010;35(3):326–32.
- [14] Potter TL, Hapeman CJ, McConnell LL, Harman-Fetcho JA, Schmidt WF, Rice CP, et al. Endosulfan wet deposition in Southern Florida (USA). *Sci Total Environ* 2014;468:505–13.
- [15] Castillo JM, Casas J, Romero E. Isolation of an endosulfan-degrading bacterium from a coffee farm soil: persistence and inhibitory effect on its biological functions. *Sci Total Environ* 2011;412:20–7.
- [16] ATSDR. Toxicological profile for Endosulfan. Atlanta, Georgia: Agency for Toxic Substances and Diseases Registry; 2015. p. 203–13.
- [17] UNEP-POPS-COP-CONVTEXT-2009, UNEP. Endosulfan. Risk Profile. Adopted by the persistent Organic Pollutants Review; 2009a.
- [18] Rodrigo MA, Oturan N, Oturan MA. Electrochemically assisted remediation of pesticides in soils and water: a review. *Chem Rev* 2014;114(17):8720–45.
- [19] Rubi JH, Cotillas S, Sáez C, Cañizares P, Barrera DC, Rodrigo MA. Removal of herbicide glyphosate by conductive-diamond electrochemical oxidation. *Appl Catal B* 2016;188:305–12.

- [20] Martínez HA, Rodrigo MA, Sirés I, Scialdone O. Single and coupled electrochemical processes and reactors for the abatement of organic water pollutants: a critical review. *Chem Rev* 2015;115(24):13362–407.
- [21] Matilainen A, Sillanpää M. Removal of natural organic matter from drinking water by advanced oxidation processes. *Chemosphere* 2010;80(4):351–65.
- [22] Guenouf F, Mokhtari M, Akrouf H. Electrochemical degradation of malachite green with BDD electrodes: effect of electrochemical parameters. *Diamond Relat Mater* 2014;46:8–14.
- [23] Errami M, Salghi R, Zarrouk A, Chakir A, Al-Deyab SS, Hammouti B, et al. Electrochemical combustion of insecticides endosulfan and deltamethrin in aqueous medium using a boron-doped diamond anode. *Int J Electrochem Sci* 2012;7:4272–85.
- [24] Barrera DC, Cañizares P, Fernández FJ, Natividad R, Rodrigo MA. Electrochemical advanced oxidation processes: an overview of the current applications to actual industrial effluents. *J Mexican Chem Soc* 2014;58(3):256–75.
- [25] Patel PS, Bandre N, Saraf A, Ruparelia JP. Electro-catalytic materials (electrode materials) in electrochemical wastewater treatment. *Procedia Eng* 2013;51:430–5.
- [26] Von Gunten U. Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation. *Water Res* 2003;37(7):1443–67.
- [27] Staehelin J, Hoigné J. Decomposition of ozone in water in the presence of organic solutes acting as promoters and inhibitors of radical chain reactions. *Environ Sci Technol* 1985;19:1206–11.
- [28] Salazar C, Contreras N, Mansilla HD, Yáñez J, Salazar R. Electrochemical degradation of the antihypertensive losartan in aqueous medium by electro-oxidation with boron-doped diamond electrode. *J Hazard Mater*; 2016 [in press].
- [29] Martín de Vidales MJ, Robles J, Domínguez JC, Cañizares P, Sáez C, Molina A, et al. Removal of sulfamethoxazole from waters and wastewaters by conductive-diamond electrochemical oxidation. *J Chem Technol Biotechnol* 2012;87(10):1441–9.
- [30] Contreras N, Vidal J, Berrios C, Villegas L, Salazar R. Degradation of antihypertensive hydrochlorothiazide in water from pharmaceutical formulations by electro-oxidation using a BDD anode. *Int J Electrochem Sci* 2015;10(11):9269–85.
- [31] Flox C, Garrido JA, Rodríguez RM, Centellas F, Cabot PL, Arias C, et al. Degradation of 4, 6-dinitro-o-cresol from water by anodic oxidation with a boron-doped diamond electrode. *Electrochim Acta* 2005;50(18):3685–92.
- [32] APHA, AWWA. Standard methods for the examination of water and wastewater. In: Eaton Andrew D, AWWA, Clesceri Leonore S, WEF, Rice Eugene W, Greenberg Arnold E, APHA, Franson Mary Ann H, 21st ed., Washington; 2005.
- [33] Hernández FFJ, Bayo J, de los Ríos AP, Vicente MA, Bernal FJ, Quesada MJ. Discovering less toxic ionic liquids by using the Microtox® toxicity test. *Ecotoxicol Environ Saf* 2015;116:29–33.
- [34] Zadorozhnaya O, Kirsanov D, Buzhinsky I, Tsarev F, Abramova N, Bratov A, et al. Water pollution monitoring by an artificial sensory system performing in terms of *Vibrio fischeri* bacteria. *Sens Actuat, B: Chem* 2015;207:1069–75.
- [35] EN ISO 11348-3:2007. Waterquality – Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminiscent bacteria test) – Part 3: Method using freeze – dried bacteria; 2007.
- [36] Chang SC, Wang YF, You SJ, Kuo YM, Tsai CH, Wang LC, et al. Toxicity evaluation of fly ash by Microtox®. *Aerosol Air Qual Res* 2013;13:1002–8.
- [37] Pereira GF, Rocha FRC, Bocchi N, Biaggio SR. Electrochemical degradation of the herbicide picloram using a filter-press flow reactor with a boron-doped diamond or  $\beta$ -PbO<sub>2</sub> anode. *Electrochim Acta* 2015;179:588–98.
- [38] Panizza M, Cerisola G. Direct and mediated anodic oxidation of organic pollutants. *Chem Rev* 2009;109(12):6541–69.
- [39] Murugananthan M, Yoshihara S, Rakuma T, Uehara N, Shirakashi T. Electrochemical degradation of 17 $\beta$ -estradiol (E2) at boron-doped diamond (Si/BDD) thin film electrode. *Electrochim Acta* 2007;52(9):3242–9.
- [40] Solano AMS, de Araújo CKC, de Melo JV, Peralta HJM, da Silva DR, Martínez HCA. Decontamination of real textile industrial effluent by strong oxidant species electrogenerated on diamond electrode: viability and disadvantages of this electrochemical technology. *Appl Catal, B: Environ* 2013;130:112–20.
- [41] Panizza M, Clematis D, Cerisola G. Electrochemical treatment of poorly biodegradable DPC cationic surfactant. *J Environ Chem Eng* 2016;4(3):2692–7.
- [42] Cañizares P, García J, Lobato J, Rodrigo MA. Modeling of wastewater electro-oxidation processes Part I. General description and application to inactive electrodes. *Ind Eng Chem Res* 2004;43(9):1915–22.
- [43] Yazgan MS, Kinaci C, Toroz I. Ozonation of aqueous solution of alpha endosulfan. *J Environ Sci Health, Part B* 2003;38(6):843–53.
- [44] Begum A, Gautam SK. Endosulfan and lindane degradation using ozonation. *Environ Technol* 2012;33(8):943–9.
- [45] Dercó J, Dudáš J, Valčíková M, Šimovičová K, Kecskés J. Removal of micropollutants by ozone based processes. *Chem Eng Process* 2015;94:78–84.
- [46] Enjarlis E, Ratnawati R. Kinetics and identification of products degradation of endosulfan in a solution of carbofuran by hydrolysis, ozonation with and without activated carbon. *Int J Chem Eng Appl* 2011;2(1):42–6.
- [47] Liu Y, Jiang J, Ma J, Yang Y, Luo C, Huangfu X, et al. Role of the propagation reactions on the hydroxyl radical formation in ozonation and peroxone (ozone/hydrogen peroxide) processes. *Water Res* 2015;68:750–8.
- [48] Hübner U, von Gunten U, Jekel M. Evaluation of the persistence of transformation products from ozonation of trace organic compounds – a critical review. *Water Res* 2015;68:150–70.
- [49] GurumallesháPrabu H, Manisankar P. Determination of endosulfan by stripping voltammetry. *Analyst* 1994;119(8):1867–73.

## 4.2 Artículo enviado

### Carta de envío

Dear Prof. Barrera-Diaz,

Thank you for submitting your manuscript, Physicochemical and toxicological evaluation of an integrated electrochemical-ozone treatment for the removal of Thiodan®, to International Journal of Environmental Science and Technology.

The submission id is: JEST-D-17-02203

Please refer to this number in any future correspondence.

During the review process, you can keep track of the status of your manuscript by accessing the journal's Editorial Manager site.

If you forgot your password, you can click the 'Send Login Details' link on the EM Login page at <http://jest.edmgr.com/>

Should you require any further assistance please feel free to e-mail the Editorial Office by clicking on "Contact Us" in the menu bar at the top of the screen.

With kind regards,  
Springer Journals Editorial Office  
International Journal of Environmental Science and Technology

Now that your article will undergo the editorial and peer review process, it is the right time to think about publishing your article as open access. With open access your article will become freely available to anyone worldwide and you will easily comply with open access mandates. Springer's open access offering for this journal is called Open Choice (find more information on [www.springer.com/openchoice](http://www.springer.com/openchoice)). Once your article is accepted, you will be offered the option to publish through open access. So you might want to talk to your institution and funder now to see how payment could be organized; for an overview of available open access funding please go to [www.springer.com/oafunding](http://www.springer.com/oafunding).

Although for now you don't have to do anything, we would like to let you know about your upcoming options.



31 **Introduction**

32 Endosulfan is one of the most known organochlorine pesticides that it is still synthesized in  
33 many countries. It is applied on fruit, cotton, tobacco, sugarcane crops and for tsetse fly  
34 control. This pesticide causes damages in the nervous system and it is an endocrine  
35 disruptor.

36

37 The technical grade of endosulfan (Thiodan®) is constituted by two isomers ( $\alpha$  and  $\beta$ ) in  
38 the ratio 7:3, both isomers along with endosulfan sulfate (which is the main degradation  
39 product) have similar toxicity, these compounds can be transformed to more hydrophilic  
40 molecules as endosulfan lactone, endosulfan diol and hydroxyl ether. Endosulfan was listed  
41 in the Stockolm Convention as persistent organic pollutant in 2011 and it was classified as  
42 highly hazardous pesticides (category Ib) by US Environmental Protection Agency.  
43 Nevertheless, this pesticide is still widely used across the world and remains as a serious  
44 environmental concern (Lama et al. 2016; Mitton et al. 2016; Shah et al. 2015; Astoviza et  
45 al. 2016).

46 During the last decades several technologies have been proposed to eliminate  
47 environmental pollutants as endosulfan, among them are the Advanced Oxidation Processes  
48 (AOPs), they are innovative treatment technologies for the conversion of organic pollutant  
49 into simple biodegradable and harmless products. AOPs are based on the “*in situ*”  
50 generation of powerful reactive species as hydroxyl radicals; this specie is recognized as a  
51 high efficient treatment for recalcitrant wastewater. Some of the most notable advantages of  
52 these processes are: they can be performed at room temperature and atmospheric pressure.

53

54 Electrooxidation using Boron Doped Diamonds electrodes and ozonation are considered as  
55 AOPs processes. BDD electrooxidation is characterized by high reactivity towards organics  
56 oxidation and efficient use of electrical energy, while ozonation process does not produce  
57 sludge, the molecules of ozone and hydroxyl radicals act together to degraded organic  
58 compounds (Caliman et al. 2011; Barrera et al. 2014; Oturan and Aaron 2014).

59

60 Until now, very few studied has been performed on the toxicity analysis of the effluents  
61 treated by AOPs. However, it is important to evaluate if there is an effect of the

62 environment one the water has been treated. Furthermore, it is desirable to combine AOPs  
63 with biological techniques in order to minimize costs, increase the efficiency treatment  
64 performance and open up the possibility of reuse of the treated effluent (Punzi et al. 2015;  
65 Van Aken et al. 2015).

66

67 *Myriophyllum aquaticum* Vell. (Verdc) has been used for the removal of contaminants such  
68 as metals, organic molecules present in industrial wastewater, antibiotic, nitrogen, and it is  
69 used as a bioindicator in contaminated rivers, and absorption of pesticides. This macrophyte  
70 is commonly known as "Parrot Feather", native plant from South America, nevertheless, it  
71 has been distributed in several parts of the world. It can be found in Australia, China,  
72 England, France, Indonesia, Japan, Madagascar, Mexico, New Zealand and Zimbabwe  
73 (Romero et al. 2017; Harguinteguy et al. 2016; Cano et al. 2014; Gujarathi et al. 2005;  
74 Zhang et al. 2016; Schreiber et al. 2013; Turgut 2005; Jeune and Lacroix 2009).

75

76 An important point to consider in the phytoremediation process is to evaluate the plant  
77 tolerance to the effluent to be treated; in this case, AOPs are based on reactions that  
78 depending on the wastewater matrix, can generate oxidant species distinct from hydroxyl  
79 radical, for example, sulfate radical, persulfate, ozone, hydrogen peroxide, hydroperoxide  
80 radical, chlorine species and superoxide radical, among others. Therefore, it is important to  
81 neutralize and/or stabilize these species before initiating the biological process; otherwise  
82 the oxidant species could cause an adverse result on organisms (Kow et al. 2016; Moreira et  
83 al. 2017; Oller and Sánchez 2011).

84

85 One of the mechanisms through which organisms tolerate the presence of pollutants is the  
86 activation of defense systems that suppress or eliminate reactive oxygen species (ROS), this  
87 type of species includes superoxide radicals, hydrogen peroxide and hydroxyl radicals. The  
88 cellular ROS production is stimulated in response to metabolic imbalances generated by  
89 stress conditions that breaks down cellular homeostasis. A number of biotic and abiotic  
90 factors, including the presence of contaminants, modify the balance between production  
91 and removal of ROS and induce a phenomenon known as oxidative stress (Nath et al. 2017;  
92 Dietz et al. 2016).

93

94 The aim of this research is to evaluate the coupled Electrooxidation-Ozonation process for  
95 the degradation of Thiodan®, as well as the tolerance of *Myriophyllum aquaticum* to the  
96 solution after the coupled process.

97

## 98 **Materials and Methods**

99

### 100 *Chemicals*

101 Endosulfan formulation is commercially available as Thiodan®, which contains not less  
102 than 33% of endosulfan (equivalent to 350 g/L Endosulfan) and not more than 67% of  
103 excipients, it was purchased from Bayer Crop Science. Thiodan® solution was prepared to  
104 have an endosulfan initial concentration of 20 mgL<sup>-1</sup> in Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 M, which was used as  
105 support electrolyte.

106

### 107 *Electrooxidation, Ozonation and Electrooxidation - Ozonation coupled treatment*

108 Electrooxidation, ozonation and Electrooxidation-Ozonation treatment of 0.750 L  
109 Thiodan® (initial concentration of 20 mg L<sup>-1</sup>) was conducted in a 1.0 L batch cylindrical up  
110 flow glass bubble column reactor was set up. For ozonation, the ozone was supplied by a  
111 Pacific Ozone Technology generator and an ozone destructor Model No. d41202 was used  
112 for eliminated the ozone that not reacts. Ozone concentration was 5 ± 0.5 mg L<sup>-1</sup> and the  
113 rate of flow was 0.05 L min<sup>-1</sup> using a gas diffuser of 0.2 mm pore size situated at the reactor  
114 bottom. Both the electrooxidation and electrooxidation-ozonation treatment, were  
115 conducted using a pair of BDD electrodes (niobium substrate), with a surface area of 50  
116 cm<sup>2</sup> and an electrodes gap of 1 cm. A direct-current power source supplied the system with  
117 current density of 60 mA cm<sup>-2</sup>. The supporting electrolyte was a 0.1M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution.  
118 The treatments were evaluated to pH 3 and conducted for 30 min. All tests were conducted  
119 by triplicate.

120

### 121 *Plant selection, collection and acclimatization*

122 The plants of *M. aquaticum* were collected from the dam Ignacio Ramírez, (19°27'4"N  
123 99°48'7"W), in the municipality of Almoloya de Juárez, Estado de México. The plants were

4

124 taken to the laboratory and placed in plastic tanks with drinking water and MS nutrient  
125 solution (Murashige and Skoog 1962). The specimens were kept at room temperature ( $20 \pm$   
126  $5^\circ\text{C}$ ), with a pH of 6.5 to 7.5 and exposed to natural periods of light and dark.

127

128 *Tolerance of Myriophyllum aquaticum to Thiodan® solution treated*

129 The tolerance test was performed in 4L glass containers, 1.5 L of Thiodan® solution treated  
130 and the average biomass in each system was  $33 \pm 1$  g. The control system contain drinking  
131 water (CP), the other systems contain treated solutions at the following concentrations 12.5,  
132 25, 50, 75 y 100% (v/v). The experiment was performed for 14 days, observing the plants  
133 every day and recovering the water lost due to evaporation and transpiration. All the tests  
134 were performed in triplicate.

135

136 *Effect of rest time of Thiodan® solution treated on Myriophyllum aquaticum.*

137 Test was performed with the same condition as described previously (section 2.4)  
138 Thiodan® solution treated with the electrooxidation-ozonation coupled process was stored  
139 for 0, 24, 48 and 72 h before adding it into the vessels that contain *M. aquaticum*. The  
140 systems contained solutions treated at 50% and the control system contain only drinking  
141 water. The experiment was performed for 5 days, observing the plants every day and  
142 recovering the water lost due to evaporation and transpiration. All the tests were performed  
143 in triplicate.

144

145 *Effect of species generated during electrooxidation-ozonation coupled process on*  
146 *Myriophyllum aquaticum.*

147 Test was performed with the same the conditions of solution volume and biomass that in  
148 the previous tests. Five system were evaluated, support electrolyte ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0.1 M) without  
149 treatment (SEWOT), support electrolyte ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0.1 M) with treatment (SEWT),  
150 Thiodan® solution without treatment (STWOT), Thiodan® solution with treatment (STWT)  
151 and a mixed solution of Thiodan® solution without treatment + support electrolyte with  
152 treatment (STWOT + SEWT). The systems contained solutions treated at 50% with 24 h of  
153 rest time and the control system contained drinking water. The experiment was performed



154 for 5 days, observing the plants every day and recovering the water lost due to evaporation  
155 and transpiration. All the tests were performed in triplicate.

#### 156 *Chemical analysis*

157 Chemical Oxygen Demand (COD) and Total Organic Carbon (TOC) were determined  
158 using the American Publish Health Association standard procedures (APHA 2005), using a  
159 Hach DR 5000 and TOC-L Shimadzu Total Organic Carbon analyzer, respectively. The  
160 concentration of generated H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was determined spectrophotometrically by Eisenberg  
161 method using a UV-Vis spectrophotometer (PerkinElmer Model Lambda 25 UV/Vis)  
162 (Eisenberg 1943).

163

164 The concentration of chlorides was measured using ion chromatography AQUION,  
165 equipped with software chromeleon 7 and using a chromatographic column Dionex IonPac  
166 AS11-HC (4 x 250 mm).

167

#### 168 *Production of biomass*

169 For calculate the Relative Growth Rates (RGR) each plant used was measured and weighed  
170 before and after the each treatment. The RGR were calculated with equation 1:

171

$$172 \quad RGR = (\ln W_1 - \ln W_0) / (t_1 - t_2) \quad (1)$$

173

174 where W<sub>1</sub> and W<sub>2</sub> are the initial and final length and weight of plants and t<sub>1</sub> – t<sub>2</sub> is the  
175 interval time of the experiment (Hunt 1982).

176

#### 177 *Pigments*

178 After that plants were exposed, 0.344 g of biomass was weighed, macerated with 5 mL of a  
179 1:9 solution of ammonium hydroxide and acetone at 80% and refrigerated for two hours.  
180 After this time, 5 mL of 80% acetone were added. The sample was centrifuged at 3200 rpm  
181 for 20 min, after that 2 ml of supernatant were taken and added into to 8 mL of 80%  
182 acetone. The solution mixture was analyzed for chlorophyll a (668 nm), chlorophyll b (640  
183 nm) and carotenes pair (470 nm) in an UV/Vis Genesys brand Model 10S Thermo

184 spectrophotometer (EPA 1994). All tests were conducted by triplicate. Equations to  
185 determine the pigments shown below (2), (3) and (4)

186

$$187 \text{ mg/mL (chlorophyll a)} = (12.7 * \text{Abs}663) - (2.69 * \text{Abs} 645) \quad (2)$$

$$188 \text{ mg/mL (chlorophyll b)} = (22.9 * \text{Abs}645) - (4.68 * \text{Abs} 663) \quad (3)$$

$$189 \mu\text{g/mL (carotenes)} = (3.775 * \text{Abs}470) - (0.21 * \text{chlorophyll b}) \quad (4)$$

190

### 191 *Oxidative Stress*

192 For the determination of proteins and antioxidants enzymes, 500 mg of biomass were  
193 weighed and macerated with 5 mL of 0.1 M  $\text{K}_3\text{PO}_4 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  buffer (pH 7), 0.1 mM EDTA  
194 and 5% polivinilpirrolidone (PVP) in a mortar; the homogenate was centrifuged at 13,500  
195 rpm for 30 min at 4°C. Proteins were quantified by Bradford method (1976), using as  
196 standard bovine serum albumin. Lipid peroxidation levels were determined through the  
197 formation of malondialdehyde (MDA) produced by the lipid peroxidation when reacting  
198 with thiobarbituric acid, using an extinction coefficient of  $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ , using the  
199 Buege and Aust method (1978). The activity of superoxide dismutase (SOD:EC.1.15.1.1)  
200 was obtained according to Misra and Fridovich method (1972) and the catalase activity  
201 (CAT: EC 1.11.1.6) was obtained according to Aebi (1984) which is based on  $\text{H}_2\text{O}_2$   
202 disappearance by CAT enzymatic activity. A UV/Vis Genesys brand Model 10S Thermo  
203 spectrophotometer was used for experimental determinations. All tests were conducted by  
204 triplicate.

205

### 206 *Toxicity assay test with Lactuca sativa L. seeds*

207 Into Petri dishes of 9 cm diameter containing filter paper impregnated with 4 mL the test  
208 solutions or negative/positive control (distilled water and  $\text{ZnSO}_4$ ), were placed 20 seeds of  
209 *Lactuca sativa* L. (lettuce). The dishes were maintained in an incubator under controlled  
210 temperature of  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , for 120 h, according to standardized protocols (EPA 1989). The  
211 evaluated solutions were SEWOT, SEWT, STWOT, STWT and STWOT + SEWT, before  
212 and after exposure with *Myriophyllum aquaticum* at concentrations of 100, 50 and 25%.  
213 After 5 days, % germination index (GI) and the relative growth index (RGI) were  
214 calculated according equations 5 and 6.

215

$$216 \quad GI (\%) = \frac{RLS \times GSS}{RLC \times GSC} \times 100 \quad (5)$$

$$217 \quad RGI = \frac{RLS}{RLC} \quad (6)$$

218

219 where RLS is the radicle length of the sample, RLC is the radicle length of the control, GSS  
 220 is the number of germinated seeds in the sample and GSC is the number of germinated  
 221 seeds in the control. The RGI values were classified in three categories according to the  
 222 toxicity effects observed (Freitas et al. 2017; Priac et al. 2017):

223

224 1) Inhibition of the root elongation (I):  $0 < x < 0.8$

225 2) No significant effects (NSE):  $0.8 \leq x \leq 1.2$

226 3) Stimulation of the root elongation (S):  $RGI \geq 1.2$

227

### 228 *Statistical analysis*

229 The statistical analyses were performed with Minitab 17, statistical software. The  
 230 significance of the differences between the mean values of each test was determined by one  
 231 – way analysis of variance (ANOVA), according to Dunnett at  $p < 0.05$  to compare the  
 232 effect of solutions exposure on RGR, chlorophyll and enzymatic activities in relation to a  
 233 control.

234

## 235 **Results and Discussion**

236

### 237 *Thiodan® degradation by AOPs processes*

238 The degradation of Thiodan® was performed by electrooxidation with BDD electrodes,  
 239 ozonation and a coupled process. The reaction time for each process was 30 min, pH 3, 20  
 240  $\text{mgL}^{-1}$  of endosulfan solution (Thiodan®),  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0.1M in a total volume of 0.75 L and the  
 241 ozone concentration was  $5 \pm 0.5 \text{ mgL}^{-1}$ . These operating conditions have been chosen  
 242 considering a previous work (Rosales et al. 2017). As shows in Fig. 1a, the electrooxidation  
 243 process removed 68% of COD. The ozonation process achieved a removal of 62%. The  
 244 coupled process showed a good performance since the COD removal increase up to a 83%  
 245 and the TOC removal was 88%.

8

246 As can be observe the lowest % COD removal was obtained using an ozonation process,  
 247 this can be explained since one of the limitations of this process is the mass transfer from  
 248 the gas phase to the liquid phase. Nevertheless the efficiency in the degradation of organic  
 249 compounds depends mainly on the reaction mechanism, under acidic conditions a selective  
 250 and slow oxidation reaction occurs with ozone molecule and organic compounds, it is the  
 251 direct ozonation (Barrera and González 2017; Bessegato et al. 2016). From Fig. 1b, it is  
 252 noted that in ozonation process, the solution pH decreased slightly during the treatment, a  
 253 similar behavior was observed by Paprocki et al. 2010 during the ozonation of azo dye acid  
 254 black and this effect is attribute to the formation of inorganic and organic acids.

255

256 On the other hand, in the electrooxidation process an increase in COD removal was  
 257 observed, in acid or neutral medium the oxidative process at BDD several series/parallel  
 258 steps may be involved, the oxidation directly at the electrode surface and the decomposition  
 259 of water molecules with generation of hydroxyl radicals, which have a high oxidation  
 260 standard potential ( $E^\circ/V$  vs SHE 2.8). Hydroxyl radicals attack is non-selective, thus  
 261 remove a higher amount of organic compounds than ozonation, the pH value increased with  
 262 the reaction time, possibly due to  $\bullet\text{OH}$  formation (reaction 1) and the formation of  
 263 carbonate and bicarbonate ions (Martínez et al. 2015; Murugananthan et al. 2011).

264



266

267 The major COD removal was when using a coupled process; a possible mechanism of  
 268 degradation is that ozone fragments the organic compounds generating intermediates that  
 269 are subsequently degraded by the hydroxyl radicals produced in the electrooxidation  
 270 process this synergistic effect of both processes has been reported for the degradation of  
 271 organic pollutants and for wastewater from different sources (Qiu et al. 2014; de Leon et al.  
 272 2017; Bakheet et al. 2014).

273

274 **Fig. 1** a) % COD removal and b) variation of pH solution for three different processes. (□)Electrooxidation,  
 275 Electrolysis conditions: pH 3, 20  $\text{mgL}^{-1}$  of endosulfan solution (Thiodan®), 0.75 L,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0.1M and 60  
 276  $\text{mAcm}^{-2}$ , (●) Ozonation, Ozonation conditions: ozone concentration  $5\pm 0.5 \text{ mgL}^{-1}$ , 20  $\text{mgL}^{-1}$  of endosulfan  
 277 solution (Thiodan®) and (Δ) Coupled process, Electrolysis conditions: pH 3, 20  $\text{mgL}^{-1}$  of endosulfan solution

278 (Thiodan®), 0.75 L, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1M and 60 mAcm<sup>-2</sup>, Ozonation, Ozonation conditions: ozone concentration  
 279 5±0.5 mgL<sup>-1</sup>, 20 mgL<sup>-1</sup> of endosulfan solution (Thiodan®)

280

281 Also was determined the generation of species as hydrogen peroxide and chlorides,  
 282 byproducts in the Electrooxidation, Ozonation and coupled processes (Martínez et al. 2015).

283

284 *Hydrogen peroxide and Chlorides generated by AOPs processes:*

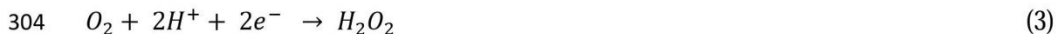
285 The hydrogen peroxide concentration was monitored in each process at different treatment  
 286 time as can be observed in Fig. 2.

287

288 **Fig. 2** Hydrogen peroxide concentration generated for three different processes. (□)Electrooxidation,  
 289 Electrolysis conditions: pH 3, 20 mgL<sup>-1</sup> of endosulfan solution (Thiodan®), 0.75 L, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1M and 60  
 290 mAcm<sup>-2</sup>, (●) Ozonation, Ozonation conditions: ozone concentration 5±0.5 mgL<sup>-1</sup>, 20 mgL<sup>-1</sup> of endosulfan  
 291 solution (Thiodan®) and (Δ) Coupled process, Electrolysis conditions: pH 3, 20 mgL<sup>-1</sup> of endosulfan solution  
 292 (Thiodan®), 0.75 L, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1M and 60 mAcm<sup>-2</sup>, Ozonation, Ozonation conditions: ozone concentration  
 293 5±0.5 mgL<sup>-1</sup>, 20 mgL<sup>-1</sup> of endosulfan solution (Thiodan®)

294

295 The electrooxidation process generated the highest concentration of hydrogen peroxide  
 296 (4.59 mgL<sup>-1</sup> at 30 min of reaction). The H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration increases as a function of  
 297 reaction time, this phenomenon might be explained by a major generation of hydroxyl  
 298 radical. The unreacted •OH tend to dimerize, which is considered a parasitic reaction and  
 299 affect the efficiency for organic compounds oxidation (Brillas and Martínez 2014) (reaction  
 300 2). Simultaneously the generation of hydroxyl radicals take place when the reduction of  
 301 oxygen occurs in the cathode (reaction 3) (Jiang and Foord 2015; Kapałka 2008; Peralta et  
 302 al. 2013).



305 It is important to consider that when is using a high concentration of sulfate as support  
 306 electrolyte and the electrochemical process is performed by anodes with high oxygen  
 307 evolution overpotential, such as BDD (non-active anodes), sulfate can also reacts  
 308 generating species as S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup> (E° 2.01V) and the decomposition of this molecule generates

309  $H_2O_2$  ( $E^\circ$  1.70V) (reactions 4-8), both species are strong oxidant and can contribute to  
 310 pollutant oxidation (Qiu et al. 2014; de Leon et al. 2017; Farhat et al. 2015; Souza et al.  
 311 2017).

312



318

319 In the ozonation process the highest peroxide concentration was achieved after 10 minutes  
 320 of reaction ( $1.42 \text{ mgL}^{-1}$ ), this concentration was 3 times lower than the generated by the  
 321 electrochemical process, after this time, the concentration decreased. Ozone in water is  
 322 unstable and undergoes reactions with water matrix components. The decomposition of  
 323 ozone in water leads to the formation of hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) and other species. The  
 324 formation of these species in aqueous solution is pH dependent and the production  
 325 hydrogen peroxide increases with the increase of pH. In this research, the  $H_2O_2$  generation  
 326 was not favored, this could be due to the acidic conditions that predominate in the process  
 327 (Fig. 1b) (Staehelin and Hoigne 1982; Chiang et al. 2006).

328

329 For the coupled process, the highest concentration of hydrogen peroxide was  $1.12 \text{ mgL}^{-1}$  at  
 330 10 min of reaction, after this time, the concentration decreased. From this behavior it can  
 331 infer two possible facts: one of them is that the hydrogen peroxide, generated by  
 332 electrooxidation process, reacts with ozone decomposing it in hydroxyl radicals according  
 333 the reaction 9. The other one is that parasitic reaction, that could be occurs in  
 334 electrooxidation process (reaction 2), it is being inhibited by coupled process conditions  
 335 and does not allow the  $H_2O_2$  formation (Bergmann and Rollin 2007). The  $H_2O_2$   
 336 decomposition and/or inhibition allows a major  $\bullet OH$  concentration, which could have  
 337 caused an increase in % COD and TOC removal.

338



340

341 The molecule of endosulfan contains 6 chlorine atoms ( $C_9H_6Cl_6O_3S$ ), which represent  
 342 almost half of its molecular weight ( $406.95 \text{ g mol}^{-1}$ ), the chlorine atoms are released as  
 343 inorganic ions in the dechlorination of endosulfan during degradation by AOP's processes.  
 344 Fig. 3 shows the chlorides concentration by electrochemical, ozonation and coupled  
 345 processes after 30 min of reaction time.

346

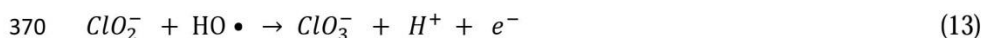
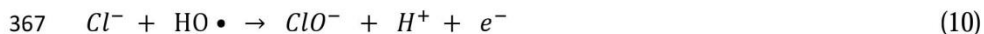
347

348 **Fig. 3** (■) Electrooxidation, Electrolysis conditions: pH 3,  $20 \text{ mgL}^{-1}$  of endosulfan solution (Thiodan®), 0.75  
 349 L,  $Na_2SO_4$  0.1M and  $60 \text{ mAcm}^{-2}$ , (□) Ozonation, Ozonation conditions: ozone concentration  $5 \pm 0.5 \text{ mgL}^{-1}$ , 20  
 350  $\text{mgL}^{-1}$  of endosulfan solution (Thiodan®) and (▣) Coupled process, Electrolysis conditions: pH 3,  $20 \text{ mgL}^{-1}$  of  
 351 endosulfan solution (Thiodan®), 0.75 L,  $Na_2SO_4$  0.1M and  $60 \text{ mAcm}^{-2}$ , Ozonation, Ozonation conditions:  
 352 ozone concentration  $5 \pm 0.5 \text{ mgL}^{-1}$ ,  $20 \text{ mgL}^{-1}$  of endosulfan solution (Thiodan®)

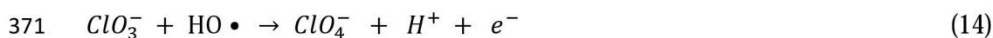
353

354 The  $Cl^-$  concentration in electrooxidation process was  $0.99 \text{ mgL}^{-1}$ , in ozonation process the  
 355 concentration non various ( $0.3 \text{ mgL}^{-1}$ ) and the highest  $Cl^-$  concentration was  $4 \text{ mgL}^{-1}$   
 356 obtained by the coupled process. This amount is about 50 % of the theoretical expected  
 357 concentration of  $10.35 \text{ mgL}^{-1}$  assuming complete release of chlorine atom present in  $20$   
 358  $\text{mgL}^{-1}$  Thiodan® solution as chloride. The low concentrations of  $Cl^-$  observed during the  
 359 electrooxidation process could be due to acidic pH conditions, the highest pH value was 5.7  
 360 (Fig. 1b). At low pH values, the main kind oxidant in the solution is the hydrochlorous  
 361 acid, this specie is predominant until pH 7. The HOCl keep balance with the hypochlorite  
 362 ion which is predominant since pH 8 and has a lower oxidation potential than  
 363 hydrochlorous acid (Parsa et al. 2014; Lutterbeck et al. 2014). As it suggested from  
 364 literature, may not be discarding the formation of other active chlorine species (reaction 10-  
 365 14) (Sánchez et al. 2011).

366



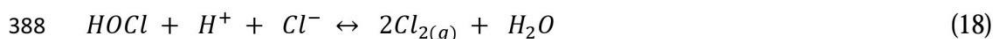
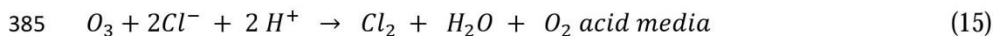
12



372

373 Stowell et al., (1991) researched the dechlorination of chlorendic acid by ozonation, the  
 374 results were presented in terms of the percent chloride released and the experiments were  
 375 carried out at pH values of 4.2 to 12.8. They observed that the liberation of chloride  
 376 increased as the pH increased, the lowest chloride concentration released was to pH 4.2 and  
 377 no differences were observed in concentration with respect to reaction time. The same  
 378 effect was observed in this work, the chloride concentration was the lowest in ozonation  
 379 process and the pH decreased with respect to reaction time, under these conditions the  
 380 presence of chlorides was not favored. A recent studies suggest that like electrooxidation  
 381 process, the chlorine being released can react rapid and directly with  $\text{O}_3$  generating  $\text{ClO}^-$ ,  
 382  $\text{ClO}_2^-$  and  $\text{ClO}_3^-$ , according reactions 15 – 21. (Paprocki et al. 2010; Stowell and Jensen  
 383 1991; Lin et al. 2016).

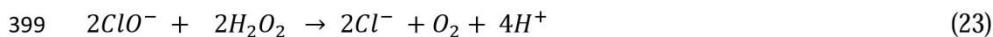
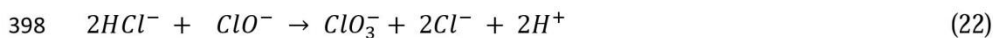
384



392

393 On the other hand, in coupled process, the  $\text{Cl}^-$  concentration increased as a function of the  
 394 treatment time, this effect can be due to the presence of  $\text{H}_2\text{O}_2$  and the increase of pH, these  
 395 conditions could favor the presence of  $\text{Cl}^-$  according reactions 22 and 23 (Lin et al. 2016;  
 396 Polcaro et al. 2008).

397



400



401 The species mentioned above as hydrogen peroxide, peroxodisulfate and active chlorine  
402 species, contribute to the degradation of organic compounds, due their high oxidation  
403 potentials (Barrera et al. 2014). Nonetheless these species, can have a negative effect on  
404 *Myriophyllum aquaticum*, this effect was evaluated by determining the production of biomass,  
405 pigments content and antioxidant activity in the plant to be exposed to Thiodan® solution  
406 treated by coupled process. Due to the high % removal of COD and TOC by the coupled  
407 process, it was decided to reduce the time reaction to 20 min.

408

#### 409 *Tolerance of Myriophyllum aquaticum to Thiodan® solution treated*

410 The plant tolerance to Thiodan® solution treated by coupled process, is an important factor  
411 to consider for phytoremediation process, in this case, the tolerance was evaluated at 12.5,  
412 25, 50, 75 and 100 % Thiodan® solution treated concentration. The biomarkers were  
413 evaluated at 7 and 14 days of exposure. The plants exposed to 75 and 100% died after 7  
414 days. At 12.5, 25 and 50% concentration at 7 and 14 days, the results showed not  
415 significant differences observed in chlorophyll contents, the average was  $43.8 \text{ mgL}^{-1}$  and  
416 chlorophyll a/b ratio was 2.76 (  $p > 0.05$ ). According with the removal COT and TOC  
417 results, the low organic compound concentrations would allow that *M. aquaticum* to  
418 tolerate the highest Thiodan® solution treated concentrations, nevertheless the plants died.  
419 These results can be due to the highly reactive species generated by AOPs, which require a  
420 stabilization time, for this reason, the rest time of Thiodan® solution treated before to  
421 expose plants and the effects of the AOPs *per se*, was evaluated.

422

#### 423 *Evaluation of rest time for Thiodan® solution treated by coupled process on M. aquaticum*

424 After 5 days, the Thiodan® treated solution with 0 and 24 h of rest time showed significant  
425 differences ( $p < 0.05$ ) in RGR (length and weight), there is a decrease when comparing the  
426 control. The total chlorophyll content increased respect to the control ( $p < 0.05$ ). The  
427 significant reduction of RGR for length and weight has been reported in various plants  
428 exposed to different pollutants and the inhibition growth is a consequence of the plant  
429 responses to environmental stress (Wang et al. 2016; Heine et al. 2016; Riaz et al. 2017).

430

431 For *M. aquaticum* exposed to Thiodan® treated solution with rest time of 48 and 72 h, the  
 432 plants not show significant differences respect the control plants ( $p > 0.05$ ), in this case, the  
 433 photosynthesis process was not affected.

434

435 Table 1 shows the results for oxidative stress, the SOD activity increase in plants when  
 436 exposed to 0 and 24 h Thiodan® treated solutions ( $p < 0.05$ ). The superoxide dismutase and  
 437 catalasa are the first defence line as a stress response towards oxidative stress and  
 438 increasing reactive oxygen species in plants. The enzyme superoxide dismutase, located in  
 439 the chloroplasts, counteracts this effect and degrades  $O_2^{\bullet-}$  to  $H_2O_2$  and oxygen. (Lyubenova  
 440 and Schröder 2011). In case of CAT activity, it increases in plants exposed to 0 solution ( $p$   
 441  $< 0.05$ ). The CAT activity is explained since SOD acts generating accumulation of  $H_2O_2$ ,  
 442 which is eliminated by the CAT, the increase of this enzyme indicate that it is sufficient to  
 443 eliminate the hydrogen peroxide, although other systems can also act as glutathione  
 444 peroxidase. For lipid peroxidation there were not significant differences noted respect the  
 445 control in any case. Nonetheless, these is a slight increase at the Thiodan® treated solution  
 446 with 0 h of rest time, which is related to % RGR (length and weight) decrease.

447 Lipid peroxidation involves the formation and propagation of lipid radicals, loss of  $O_2$  and  
 448 eventual destruction of the membranes, generating a variety of products including ketones,  
 449 alcohols, ethers and aldehydes. One of these products is malondialdehyde (MDA) which is  
 450 generated with the breakdown of polyunsaturated fatty acids, and is used to determine the  
 451 degree of peroxidation (Dordio et al. 2011).

452

453 **Table 1** Oxidative Stress in *Myriophyllum aquaticum* exposed to Thiodan® solutions treated by coupled  
 454 treatment with different rest times (\*ANOVA  $p < 0.05$  and Dunnett's multiple range test)

Rest time (hours)	SOD ( $\mu\text{M}$ of SOD* $\text{mg}^{-1}$ protein)	CAT ( $\mu\text{M}$ of $\text{H}_2\text{O}_2$ * $\text{mg}^{-1}$ protein)	LIPOX (nM of MAD* $\text{mg}^{-1}$ protein)
CP	112.50	6.36	5.85
0	136.87*	7.63*	6.90
24	131.24*	7.05	6.11
48	110.30	6.58	5.66
72	110.77	5.85	6.08

455

456

457 *Effect of species generated during coupled process on Myriophyllum aquaticum.*

458 Fig. 4 shows the evaluation of *M. aquaticum* on SEWOT, SEWT, STWOT, STWT,  
459 STWOT + SEWT, as observed only the plants exposed to SEWOT showing behavior  
460 similar to the control in % RGR (length and weight). For the other systems, the plant  
461 growth decreased significantly with respect to control ( $p < 0.05$ ).

462

463 **Fig. 4** Relative growth rate (RGR) of a) length and b) weight, of *Myriophyllum aquaticum* exposed to  
464 Drinking water (CP), Support electrolyte without treatment (SEWOT), Support electrolyte with treatment  
465 (SEWT), Thiodan® solution without treatment (STWOT), Thiodan® solution with treatment (STWT) and  
466 Thiodan® solution without treatment + support electrolyte with treatment (STWOT + SEWT) at 50% (with  
467 24 h rest time) after 5 days. The lines on the bars indicate the standard error. \*ANOVA  $p < 0.05$  and  
468 Dunnett's multiple range test

469

470 Total chlorophyll content increased for SEWT, STWT, STWOT + SEWT, significant  
471 differences respect the control plants are observed, in the case of STWOT the concentration  
472 decreased.

473

474 Chlorophyll a/b ratio was less than 2.5 for STWT and STWOT + SEWT. Photosynthesis is  
475 an important process that maintains the life of a plant, and thus a good index indicates the  
476 growth, development and reproduction status of a plant under environmental pollution  
477 stress (Yan and Zhou 2011). Photosynthetic production of plants was increased under the  
478 stresses of SEWT, STWT, STWOT + SEWT solutions, this effect may directly affect the  
479 CO<sub>2</sub> uptake during photosynthesis (Cano et al. 2014). The total chlorophylls decreased at  
480 STWOT solution due to the peroxidation of pigments and chloroplast membranes by  
481 increased production of free radicals, this result agrees with the increase obtained in lipid  
482 peroxidation (Kanoun-Boulé et al. 2009).

483

484 Chlorophyll a/b ratio is an indicator of the functional pigment equipment and acclimation  
485 of the photosynthetic apparatus. Chlorophyll *b* is found exclusively in the pigment antenna  
486 system and chlorophyll *a* is present in the reaction centers of photosystem I, II and in the  
487 pigment antenna. Whereas the light-harvesting pigment protein LHC-I of the  
488 photosynthetic pigment system PSI has an a/b ratio of ~3, that of LHC-II of PS II is

489 variable and shows an acclimation response. Thus, a decrease in the Chlorophyll a/b ratio  
 490 may be interpreted as an enlargement of the antenna system of PS II (Lichtenthaler 1987),  
 491 this effect was observed at STWT and STWOT + SEWT solutions, a reprogramming of  
 492 nuclear gene expression leading to chlorosis and programmed cell death can be caused by  
 493 the production of  $O_2^{\bullet-}$  in chloroplasts (Choudhury et al. 2017). Fig. 5 shows the phytotoxic  
 494 effects on *M. aquaticum* generated by SEWT, STWT, STWOT and STWOT + SEWT.

495

496 **Fig. 5** Phytotoxic effects on *Myriophyllum aquaticum* exposed to a) Drinking water (CP), b) Support  
 497 electrolyte without treatment (SEWOT), c) Support electrolyte with treatment (SEWT), d) Thiodan® solution  
 498 without treatment (STWOT), e) Thiodan® solution with treatment (STWT) and f) Thiodan® solution  
 499 without treatment + support electrolyte with treatment (STWOT + SEWT) and at 50% (with 24 h rest time)  
 500 after 5 days

501

502 The evaluation of antioxidant enzymes is shown in Fig. 6, SEWOT was the only system  
 503 that not shows significant alteration in SOD activity; nevertheless, there is a greater  
 504 generation of  $O_2^{\bullet-}$  at the other solutions caused a significant increase ( $p < 0.05$ ) in SOD  
 505 activity. Due to an increase in SOD activity in the transformation of  $O_2^{\bullet-}$  to  $H_2O_2$ , the CAT  
 506 activity increases in the systems STWOT, STWT and STWOT + SEWT, in these cases  
 507 CAT regulates the concentration of  $H_2O_2$  and avoids a greater damage in the plant. For  
 508 STWOT, the lipid membrane was affected, resulting in an increase of lipid peroxidation  
 509 respect to the control ( $p < 0.05$ ).

510

511 **Fig. 6** Antioxidant enzymes activity a) SOD, b) CAT and c) MDA in *Myriophyllum aquaticum* exposed to  
 512 Drinking water (CP), Support electrolyte without treatment (SEWOT), Support electrolyte with treatment  
 513 (SEWT), Thiodan® solution without treatment (STWOT), Thiodan® solution with treatment (STWT) and  
 514 Thiodan® solution without treatment + support electrolyte with treatment (STWOT + SEWT) at 50% (with  
 515 24 h rest time) after 5 days. The lines on the bars indicate the standard error. \*ANOVA  $p < 0.05$  and  
 516 Dunnett's multiple range test

517

518 Menone et al. (2008) evaluated the oxidative stress by endosulfan in *Myriophyllum*  
 519 *quitense*, they observed an increase in CAT activity at  $5 \mu\text{gL}^{-1}$  endosulfan concentration,  
 520 this concentration is lower than used in STWOT system. Endosulfan induces the enzymatic  
 521 activity as a protection system of this plant. On the other hand, Wang et al. (2017) assessed

522 the effect of an ozonated effluent on *V. natans*, their results show that the antioxidant  
523 protection mechanisms were active, but could not prevent the increased levels of ROS or  
524 damage to the antioxidant system in *V. natans* exposed to water subjected to high  
525 concentrations of ozonation for long periods of time.

526

527 *Phytotoxicity assay with L. sativa. seeds*

528 Toxicity analysis was done by acute toxicity testing using different microorganisms as *L.*  
529 *sativa*. The application of ecotoxicological assays represents a global approach to determine  
530 the detoxification potential of different matrices. For this research, *L. sativa* has been  
531 chosen due its rapid germination, uniformity and sensitivity (Silveira et al. 2017), the  
532 toxicity was assessed as inhibition of elongation of the radicle and hypocotyl.

533 In the seeds exposed to the solutions before treatment with *M. aquaticum*, inhibition of the  
534 root growth, roots curly and root necrosis, at all concentration assessed were observed.  
535 After the treatment with *M. aquaticum*, the seeds germinated at all concentrations, the  
536 elongation of the radicle and hypocotyl was similar as control system.

537

538 Fig 7 shows the effects of Thiodan® solution treated with coupled treatment in *L. sativa L.*  
539 seeds before and after treatment with *M. aquaticum*.

540

541 **Fig. 7** *L. sativa L.* seeds exposed to a) distilled water (control) and Thiodan® solution treated with coupled  
542 treatment b) before and c) after treatment with *M. aquaticum*

543

544 As can be seen in Table 2, the RGI value was lower than 0.8 at all concentrations before the  
545 treatment with *M. aquaticum*, the effect of the solutions was inhibitory. On the other hand,  
546 no significant effects were observed at most concentrations of solutions after treatment with  
547 *M. aquaticum*. In the case of SEWT and STWOT + SEWT at 100%, there is still an  
548 inhibitory effect (Freitas et al. 2017; Priac et al. 2017).

549

550

551

552

553

554 **Table 2** GI (%) and RGI observed in *Lactuca sativa* seed after exposure with test solutions

System	Before <i>Myriophyllum aquaticum</i>				After <i>Myriophyllum aquaticum</i>			
	Dilution (%)	GI (%)	RGI	Toxicity category	Dilution (%)	GI (%)	RGI	Toxicity category
Support electrolyte without EO-O <sub>3</sub> treatment (SEWOT)	25	63.1	0.7	I	25	106.2	1.1	NSE
	50	45.6	0.5	I	50	94.1	0.9	NSE
	100	23.4	0.2	I	100	80.1	0.8	NSE
Support electrolyte with EO-O <sub>3</sub> treatment (SEWT)	25	52.9	0.6	I	25	100.5	1.0	NSE
	50	34.2	0.4	I	50	89.0	0.9	NSE
	100	13.8	0.1	I	100	68.1	0.7	I
Thiodan® solution without treatment (STWOT)	25	47.2	0.7	I	25	110.9	1.1	NSE
	50	49.8	0.5	I	50	91.0	0.9	NSE
	100	37.5	0.4	I	100	85.4	0.9	NSE
Thiodan® solution with treatment (STWT)	25	65.4	0.7	I	25	105.1	1.1	NSE
	50	37.7	0.4	I	50	81.3	0.8	NSE
	100	8.6	0.1	I	100	76.4	0.8	NSE
Thiodan® solution without treatment + support electrolyte with EO-O <sub>3</sub> treatment (STWOT + SEWT)	25	73.0	0.7	I	25	113.3	1.1	NSE
	50	70.9	0.7	I	50	85.4	0.9	NSE
	100	13.7	0.1	I	100	65.9	0.7	I

555

556 GI germination index, RGI relative growth index, S stimulation, I inhibition, NSE no significant effect.

557

558 In this regard, the use of *L. sativa* provides data about the possible effect of pollutants on  
 559 plant communities near the banks of polluted water bodies and is also an interesting species  
 560 considering its importance from the point of view of horticulture and water reuse.

561

562 **4. Conclusions**

563

564 The degradation of Thiodan® in aqueous solution by AOPs showed that coupled process  
 565 reduces more efficiently the organic content compared with electrooxidation and ozonation  
 566 processes. Nevertheless, the generation of highly reactive species affected the subsequent  
 567 use of phytoremediation process. *Myriophyllum aquaticum* was not able to tolerate high  
 568 concentrations of Thiodan® treated solution, hence lethal effects were observed and  
 569 consequently it was necessary to give a rest time to the solution to stabilize the reactive  
 570 species generated. After 24 h of rest time, the induction of CAT and SOD demonstrates that  
 571 the antioxidant protection mechanisms were active on plants exposed to STWOT, STWT,

19

572 SEWT and STWOT + SEWT; this result showed that both Thiodan® and the coupled  
573 process *per se* exert oxidative stress in the macrophyte. An important point to highlight, it  
574 is the response of *Lactuca sativa* seeds to solutions after exposure to *Myriophyllum*  
575 *aquaticum*, it was observed nontoxic effect. For these reasons, the Thiodan® solution  
576 treated by coupled process require a rest time of 48 h before continuing to a polishing  
577 process like phytoremediation or before spilled to the water body or reused.

578

#### 579 **Conflicts of Interest**

580 The authors declare that they have no conflicts of interest.

581

#### 582 **Acknowledgements**

583 The authors wish to acknowledge the support given by the Centro Conjunto de  
584 Investigación en Química Sustentable, UAEM-UNAM, Dra. Reyna Natividad for TOC and  
585 chromatography tests and the Facultad de Química de la UAEM. Financial support from  
586 CONACYT through project 153828 and scholarship 273623 is greatly appreciated. The  
587 technical support of Citlalit Martínez Soto is greatly appreciated.

588

#### 589 **References**

590

591 Aebi H (1984) Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 105:121-126

592 APHA, AWWA, 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*,  
593 21st Edition Edited by Andrew D. Eaton, AWWA; Leonore S. Clesceri, WEF; Eugene W  
594 Rice, and Arnold E. Greenberg, APHA; Mary Ann H. Franson. Washinton.

595

596 Astoviza M, Cappelletti N, Bilos C, Migoya M, Colombo J (2016) Massive airborne  
597 Endosulfan inputs related to intensive agriculture in Argentina's Pampa. *Chemosphere*  
598 144:1459-1466

599

600 Bakheet B, Qiu C, Yuan S, Wang Y, Yu G, Deng S, Wang B (2014) Inhibition of polymer  
601 formation in electrochemical degradation of p-nitrophenol by combining electrolysis with  
602 ozonation. *Chem Eng J* 252:17-21

603

604 Barrera C, Cañizares P, Fernández F, Natividad R, Rodrigo M (2014) Electrochemical  
605 advanced oxidation processes: an overview of the current applications to actual industrial  
606 effluents. J Mex Chem Soc 58(3):256-275

607

608 Barrera C, González N (2017) Electrooxidation-Ozonation: A Synergistic Sustainable  
609 Wastewater Treatment Process. In Physico-Chemical Wastewater Treatment and Resource  
610 Recovery. InTech 43-52

611

612 Bergmann H, Rollin J (2007) Product and by-product formation in laboratory studies on  
613 disinfection electrolysis of water using boron-doped diamond anodes. Catal Today  
614 124(3):198-203

615

616 Bessegato G, Cardoso C, da Silva F, Zaroni B (2016) Combination of photoelectrocatalysis  
617 and ozonation: A novel and powerful approach applied in Acid Yellow 1 mineralization.  
618 Appl Catal B: Environ 180:161-168

619

620 Bradford M (1976) A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram  
621 Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Anal Biochem  
622 72:248-254

623

624 Brillas E, Martínez C (2015) Decontamination of wastewaters 401 containing synthetic  
625 organic dyes by electrochemical methods. An updated review. Appl Catal B: Environ  
626 166:603-643

627 Buege J, Aust S (1978) Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol 52:302-310

628

629 Caliman F, Robu B, Smaranda C, Pavel V, Gavrilesco M (2011) Soil and groundwater  
630 cleanup: benefits and limits of emerging technologies. Clean Technol Envir 13(2):241-268

631

632 Cano C, Roa G, Amaya A, Valdés R, Barrera C, Balderas P (2014) Tolerance of  
633 *Myriophyllum aquaticum* to exposure of industrial wastewater pretreatment with



- 634 electrocoagulation and their efficiency in the removal of pollutants. J Environ Biol  
635 35(1):127-136  
636
- 637 Chiang Y, Liang Y, Chang N, Chao C (2006) Differentiating ozone direct and indirect  
638 reactions on decomposition of humic substances. Chemosphere 65(11):2395-2400  
639
- 640 Choudhury K, Rivero M, Blumwald E, Mittler R (2017) Reactive oxygen species, abiotic  
641 stress and stress combination. Plant J 90(5):856-867  
642
- 643 de Leon C, Barrera C, Barrios J, Becerril E, Reyes H (2017) A coupled ozonation–  
644 electrooxidation treatment for removal of bisphenol A, nonylphenol and triclosan from  
645 wastewater sludge. Int J Environ Sci Technol 14(4): 707-716  
646
- 647 Dietz K, Mittler R, Noctor G (2016) Recent progress in understanding the role of reactive  
648 oxygen species in plant cell signaling. Plant Physiol 171(3):1535-1539
- 649 Dordio A, Ferro R, Teixeira D, Palace J, Pinto P, Dias M (2011) Study on the use of *Typha*  
650 *spp.* for the phytotreatment of water contaminated with ibuprofen. Int J Environ Anal Chem  
651 91(7-8):654-667  
652
- 653 Eisenberg G, (1943) Colorimetric determination of hydrogen peroxide. Ind. Eng. Chem  
654 15:327-328  
655
- 656 EPA (United States. Environmental Protection Agency) (1989) Protocols for short term  
657 toxicity screening of hazardous waste sites. A.8.7, Lettuce root elongation (*Lactuca sativa*).  
658 EUA, Chicago  
659
- 660 EPA (United States. Environmental Protection Agency) (1994) Standard Operating  
661 Procedures, Chlorophyll Determination. SOP: 2030 In: U.S. Environmental Protection  
662 Agency. Washington D.C. USA. EP-W-09-031  
663

- 664 Farhat A, Keller J, Tait S, Radjenovic J (2015) Removal of persistent organic contaminants  
665 by electrochemically activated sulfate. *Environ Sci Technol* 49(24):14326-14333  
666
- 667 Freitas M, Rivas G, Campos C, López C, Agüera A, Pérez S (2017) Ecotoxicity evaluation  
668 of a WWTP effluent treated by solar photo-Fenton at neutral pH in a raceway pond reactor.  
669 *Environ Sci Pollut Res* 24(2):1093-1104  
670
- 671 Gujarathi P, Haney J, Linden C (2005) Phytoremediation potential of *Myriophyllum*  
672 *aquaticum* and *Pistia stratiotes* to modify antibiotic growth promoters, tetracycline, and  
673 oxytetracycline, in aqueous wastewater systems. *Int J Phytorem* 7(2):99-112  
674
- 675 Harguinteguy C, Cofré M, Fernández A, Pignata M, (2016) The macrophytes *Potamogeton*  
676 *pusillus* L. and *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc. as potential bioindicators of a river  
677 contaminated by heavy metals. *Microchem J* 124:228-234  
678
- 679 Heine S, Schild F, Schmitt W, Krebber R, Görlitz G, Preuss T (2016) A toxicokinetic and  
680 toxicodynamic modeling approach using *Myriophyllum spicatum* to predict effects caused  
681 by short-term exposure to a sulfonyleurea. *Environ Toxicol Chem* 35(2):376-384  
682
- 683 Hunt, R. (1982). Plant growth curves. The functional approach to plant growth analysis.  
684 Edward Arnold Ltd.  
685
- 686 Jeune B, Lacroix C (2009) A quantitative analysis of leaf growth parameters in  
687 *Myriophyllum aquaticum* (Haloragaceae). *Botany* 87(9):807-820  
688
- 689 Jiang L, Hu J, Foord S (2015) Electroanalysis of Hydrogen Peroxide at Boron Doped  
690 Diamond Electrode Modified by Silver Nanoparticles and Haemoglobin. *Electrochim Acta*  
691 176: 488-496  
692
- 693 Kanoun-Boulé M, Vicente A, Nabais C, Prasad V, Freitas H (2009) Ecophysiological  
694 tolerance of duckweeds exposed to copper. *Aquat Toxicol* 91(1):1-9

- 695  
696 Kapalka A, Fóti G, Comninellis C (2008) Kinetic modelling of the electrochemical  
697 mineralization of organic pollutants for wastewater treatment. *J Appl Electrochem* 38(1):7-  
698 16  
699  
700 Kow S, Fahmi M, Abidin C, Soon-An O (2016) Advanced Oxidation Processes: Process  
701 mechanisms, affecting parameters and landfill leachate treatment. *Water Environ Res*  
702 88(11):2047-2058  
703  
704 Lama Y, Sinha A, Singh G, Masto R (2016) Reductive dehalogenation of endosulfan by  
705 cast iron: Kinetics, pathways and modeling. *Chemosphere* 150:772-780  
706  
707 Lichtenthaler H (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic  
708 biomembranes. *Methods Enzymol* 148:350-382  
709 Lin Z, Yao W, Wang Y, Yu G, Deng S, Huang J, Wang B (2016) Perchlorate formation  
710 during the electro-peroxone treatment of chloride-containing water: Effects of operational  
711 parameters and control strategies. *Water Res* 88:691-702  
712  
713 Lutterbeck A, de Oliveira Schwaickhardt R, Straatmann A, Kist L, Lobo A, Machado L  
714 (2014) Electrooxidation combined with ozonation in hospital laundry effluents treatment.  
715 *Clean-Soil Air Water* 42(5):601-608  
716  
717 Lyubenova L, Schröder P (2011) Plants for waste water treatment—effects of heavy metals  
718 on the detoxification system of *Typha latifolia*. *Bioresour Technol* 102(2):996-1004  
719  
720 Martínez A, Rodrigo A, Sirés I, Scialdone O (2015) Single and coupled electrochemical  
721 processes and reactors for the abatement of organic water pollutants: a critical review.  
722 *Chem Rev* 115(24):13362-13407  
723

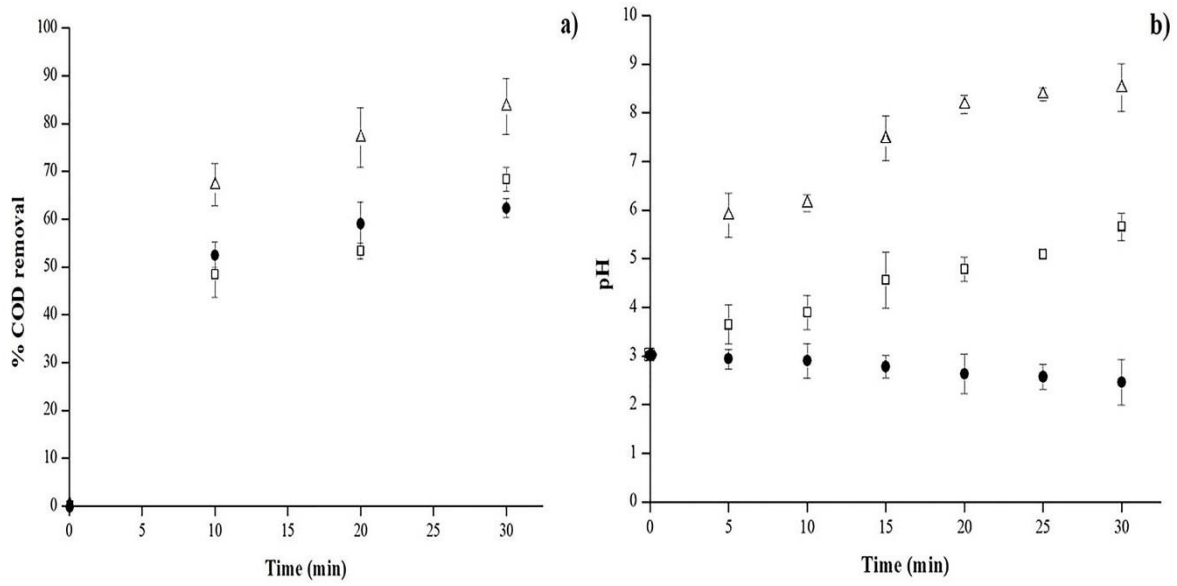
- 724 Menone M, Pesce F, Díaz P, Moreno J, Wunderlin D (2008) Endosulfan induces oxidative  
725 stress and changes on detoxication enzymes in the aquatic macrophyte *Myriophyllum*  
726 *quitense*. *Phytochemistry* 69(5):1150-1157
- 727 Misra P, Fridovich I (1972) The Role of Superoxide Anion in the Autoxidation of  
728 Epinephrine and a Simple Assay for Superoxide Dismutase. *Biol Chem* 247:3170-3175  
729
- 730 Mitton F, González M, Monserrat M, Miglioranza S (2016) Potential use of edible crops in  
731 the phytoremediation of endosulfan residues in soil. *Chemosphere* 148:300-306  
732
- 733 Moreira F, Boaventura R, Brillas E, Vilar V (2017) Electrochemical advanced oxidation  
734 processes: a review on their application to synthetic and real wastewaters. *Appl Catal B:*  
735 *Environ* 202:217-261  
736
- 737 Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassay with  
738 tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15(3):473-497  
739
- 740 Muruganathan M, Latha S, Raju B, Yoshihara S (2011). Role of electrolyte on anodic  
741 mineralization of atenolol at boron doped diamond and Pt electrodes. *Sep Purif Technol*  
742 79(1):56-62  
743
- 744 Nath M, Bhatt D, Prasad R, Tuteja N (2017) Reactive Oxygen Species (ROS) Metabolism  
745 and Signaling in Plant-Mycorrhizal Association Under Biotic and Abiotic Stress  
746 Conditions. In *Mycorrhiza-Eco-Physiology, Secondary Metabolites, Nanomaterials*  
747 Springer, Cham 223-232  
748
- 749 Oller I, Malato S, Sánchez J (2011) Combination of advanced oxidation processes and  
750 biological treatments for wastewater decontamination - a review. *Sci Total Environ*  
751 409(20):4141-4166  
752
- 753 Oturan A, Aaron J (2014) Advanced oxidation processes in water/wastewater treatment:  
754 principles and applications. *Crit Rev Env Sci Technol* 44(23):2577-2641

- 755
- 756 Paprocki A, Santos D, Hammerschitt E, Pires M, Azevedo C, (2010) Ozonation of azo dye  
757 acid black 1 under the suppression effect by chloride ion. J Braz Chem Soc 21(3):452-460  
758
- 759 Parsa B, Golmirzaei M, Abbasi M (2014) Degradation of azo dye CI Acid Red 18 in  
760 aqueous solution by ozone-electrolysis process. J Ind Eng Chem 20(2):689-694  
761
- 762 Peralta E, Natividad R, Roa G, Marin R, Romero R, Pavon T (2013) A comparative study  
763 on the electrochemical production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> between BDD and graphite cathodes. Sust  
764 Environ Res 23(4):259-266  
765
- 766 Polcaro M, Vacca A, Mascia M, Ferrara F (2008) Product and by-product formation in  
767 electrolysis of dilute chloride solutions. J Appl Electrochem 38(7):979-984  
768
- 769 Priac A, Badot M, Crini G (2017) Treated wastewater phytotoxicity assessment using  
770 *Lactuca sativa*: Focus on germination and root elongation test parameters. Comps Rendus  
771 Biol 340(3):188-194  
772
- 773 Punzi M, Nilsson F, Anbalagan A, Svensson B, Jönsson K, Mattiasson B, Jonstrup M  
774 (2015) Combined anaerobic–ozonation process for treatment of textile wastewater:  
775 Removal of acute toxicity and mutagenicity. J Hazard Mater 292:52-60  
776
- 777 Qiu C, Yuan S, Li X, Wang H, Bakheet B, Komarneni S, Wang Y (2014) Investigation of  
778 the synergistic effects for p-nitrophenol mineralization by a combined process of ozonation  
779 and electrolysis using a boron-doped diamond anode. J Hazard Mater 280:644-653  
780
- 781 Riaz G, Tabinda B, Iqbal S, Yasar A, Abbas M, Khan M, Baqar M (2017)  
782 Phytoremediation of organochlorine and pyrethroids pesticides by aquatic macrophytes and  
783 algae in freshwater system. Int J Phytorem 19(10) (just-accepted)  
784

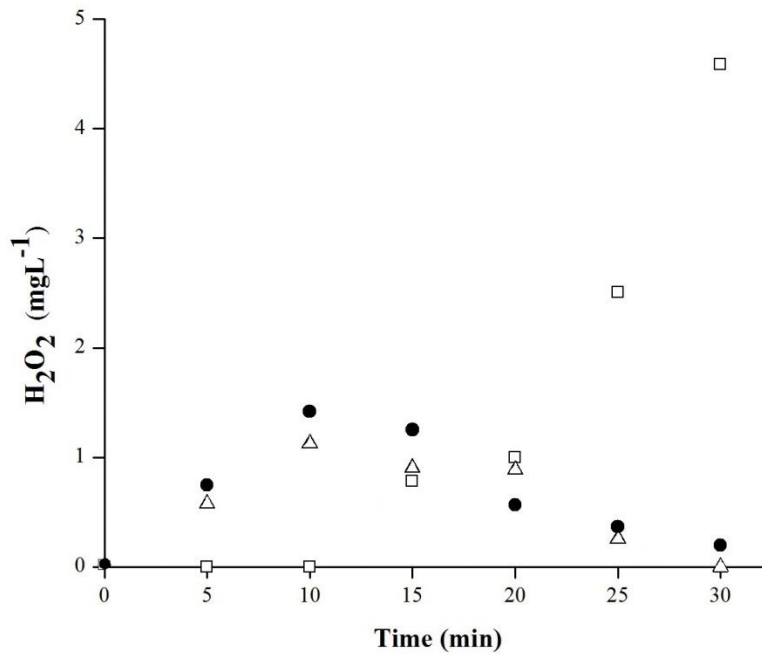
- 785 Romero J, Amaya A, Balderas P, Roa G, González N, Balderas M (2017) Tolerance and  
786 hyperaccumulation of a mixture of heavy metals (Cu, Pb, Hg, and Zn) by four aquatic  
787 macrophytes. *Int J Phytorem* 19(3):239-245  
788
- 789 Rosales C, Barrera C, Amaya A, Roa G (2017) Evaluation of a coupled system of electro-  
790 oxidation and ozonation to remove the pesticide Thiodan® 35 CE (endosulfan) in aqueous  
791 solution. *Fuel* 198:91-98  
792
- 793 Sánchez A, Sáez C, Cañizares P, Rodrigo A (2011) Electrochemical production of  
794 perchlorates using conductive diamond electrolyses. *Chem Eng J* 166(2):710-714  
795
- 796 Schreiber R, Harguinteguy C, Manetti M (2013) Dynamics of organochlorine contaminants  
797 in surface water and in *Myriophyllum aquaticum* plants of the River Xanaes in Central  
798 Argentina during the annual dry season. *Arch Environ Contam Toxicol* 65(3):466-473  
799
- 800 Shah S, He X, Khan J, Khan H, Boccelli D, Dionysiou D (2015) Comparative studies of  
801 various iron-mediated oxidative systems for the photochemical degradation of endosulfan  
802 in aqueous solution. *J Photochem Photobiol A: Chem* 306:80-86  
803
- 804 Silveira L, Lima F, dos Reis B, Palmieri J, Andrade-Vieria F (2017) Toxic effects of  
805 environmental pollutants: Comparative investigation using *Allium cepa* L. and *Lactuca*  
806 *sativa* L. *Chemosphere* 178:359-367  
807
- 808 Souza F, Quijorna S, Lanza M, Saez C, Cañizares P, Rodrigo M (2017) Applicability of  
809 electrochemical oxidation using diamond anodes to the treatment of a sulfonylurea  
810 herbicide. *Catal Today* 280:192-198  
811
- 812 Staehelin J, Hoigne J (1982) Decomposition of ozone in water: rate of initiation by  
813 hydroxide ions and hydrogen peroxide. *Environ Sci Technol* 16(10):676-681  
814

- 815 Stowell P, Jensen N (1991) Dechlorination of chlorendic acid with ozone. Water Res  
816 25(1):83-90  
817
- 818 Turgut C (2005) Uptake and modeling of pesticides by roots and shoots of parrotfeather  
819 (*Myriophyllum aquaticum*) (5pp). Environ Sci Pollut Res 12(6):342-346  
820
- 821 Van Aken P, Van den Broeck R, Degreève J, Dewil R (2015) The effect of ozonation on the  
822 toxicity and biodegradability of 2, 4-dichlorophenol-containing wastewater. Chem Eng J  
823 280, 728-736  
824
- 825 Wang J, Chen G, Liu F, Song X, Zou G (2017) Combined ozonation and aquatic  
826 macrophyte (*Vallisneria spiralis*) treatment of piggy effluent: Water matrix and  
827 antioxidant responses. Ecol Eng 102:39-45  
828
- 829 Wang Q, Li C, Zheng R, Que X (2016) Phytoremediation of chlorpyrifos in aqueous  
830 system by riverine macrophyte, *Acorus calamus*: toxicity and removal rate. Environ Sci  
831 Pollut Res 23(16):16241-16248  
832
- 833 Yan S, Zhou Q (2011) Toxic effects of *Hydrilla verticillata* exposed to toluene,  
834 ethylbenzene and xylene and safety assessment for protecting aquatic macrophytes.  
835 Chemosphere 85(6):1088-1094  
836
- 837 Zhang S, Liu F, Xiao R, He Y, Wu J (2017) Nitrogen removal in *Myriophyllum aquaticum*  
838 wetland microcosms for swine wastewater treatment: 15N-labelled nitrogen mass balance  
839 analysis. J Sci Food Agric 97(2):505-511

**Fig. 1**

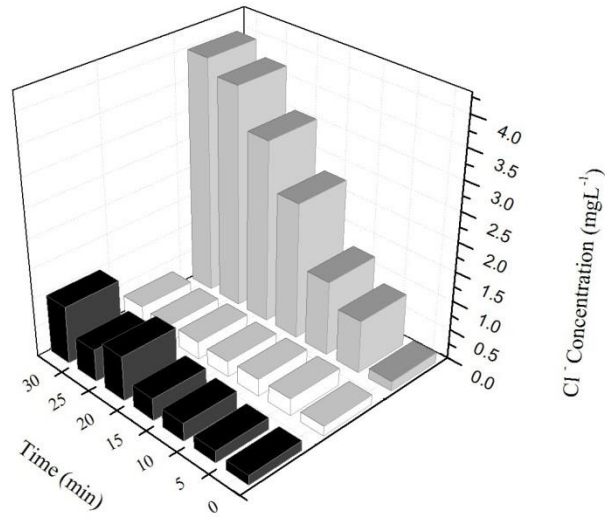


**Fig. 2**

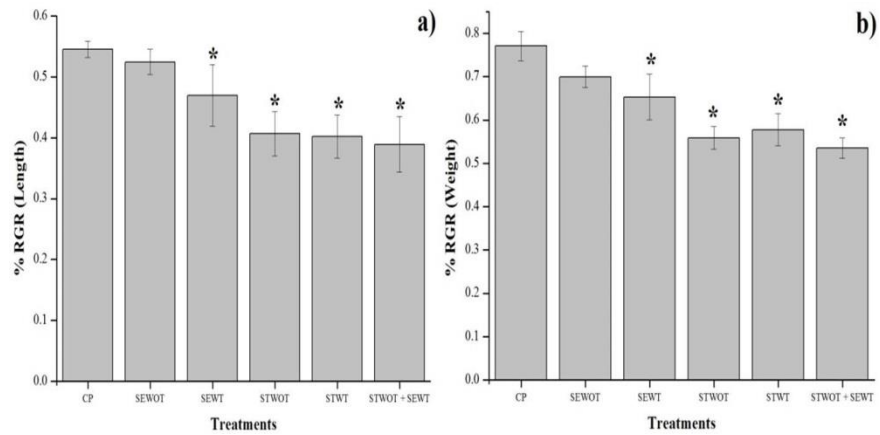




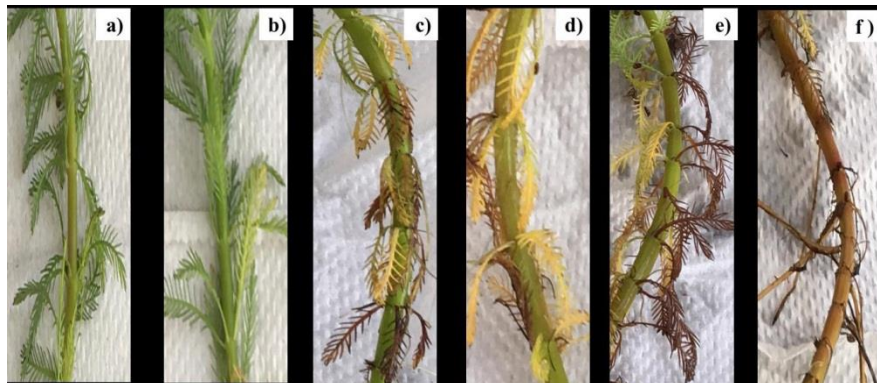
**Fig. 3**



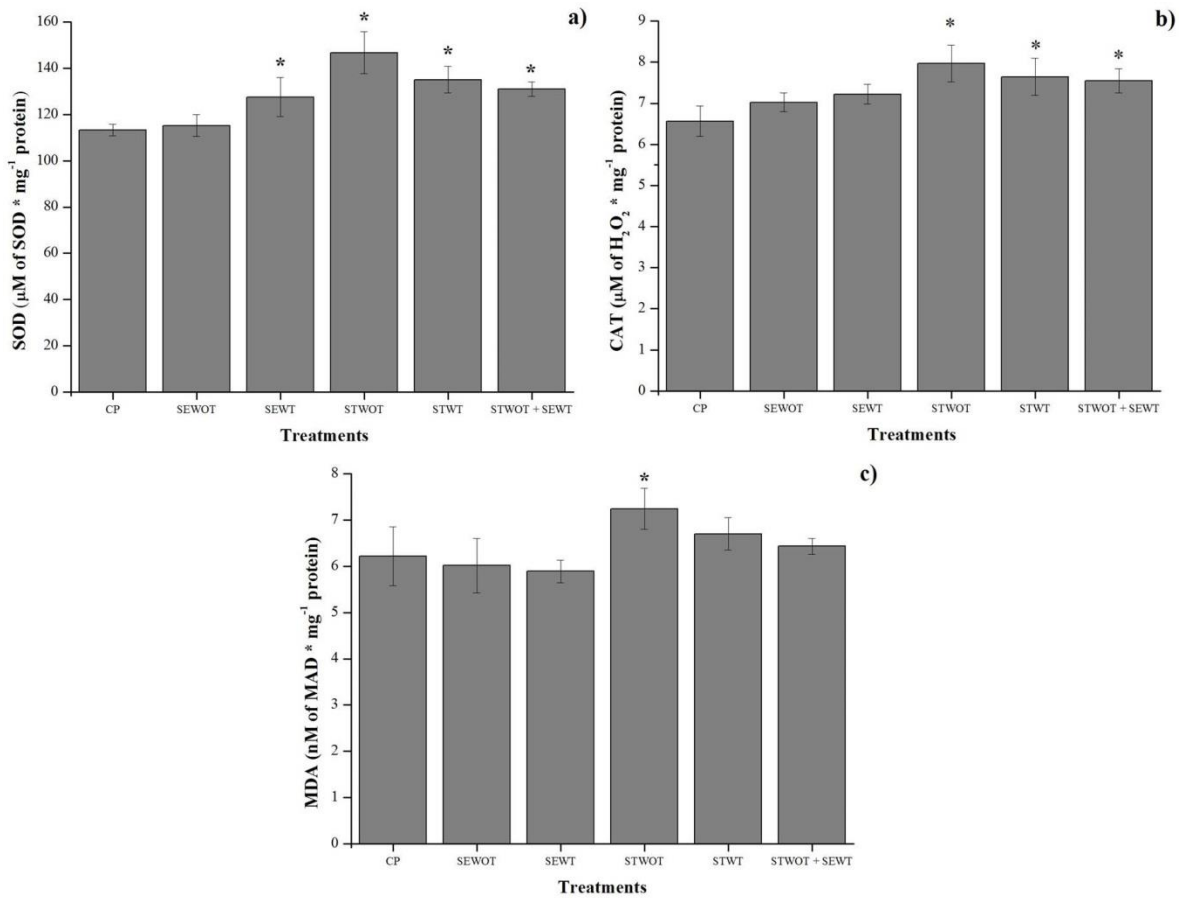
**Fig. 4**



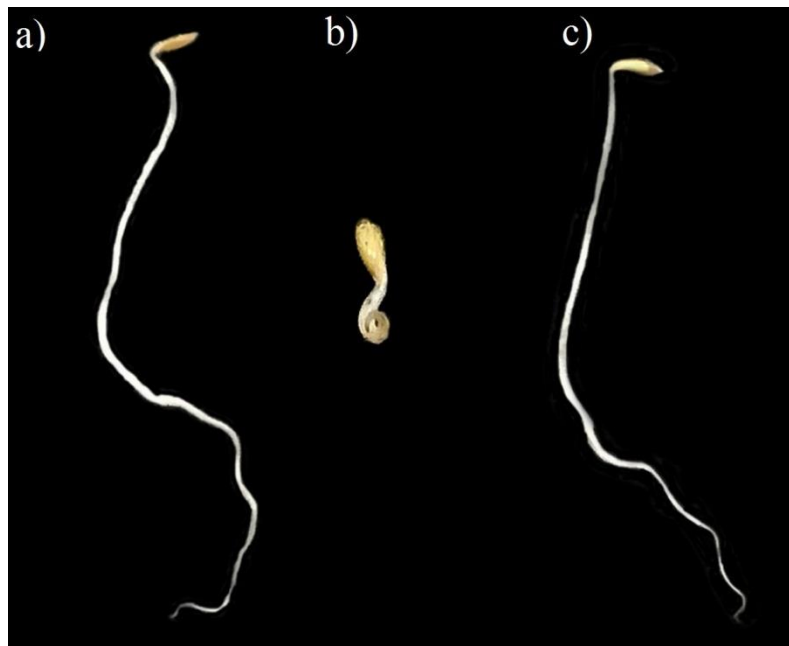
**Fig. 5**



**Fig. 6**



**Fig. 7**



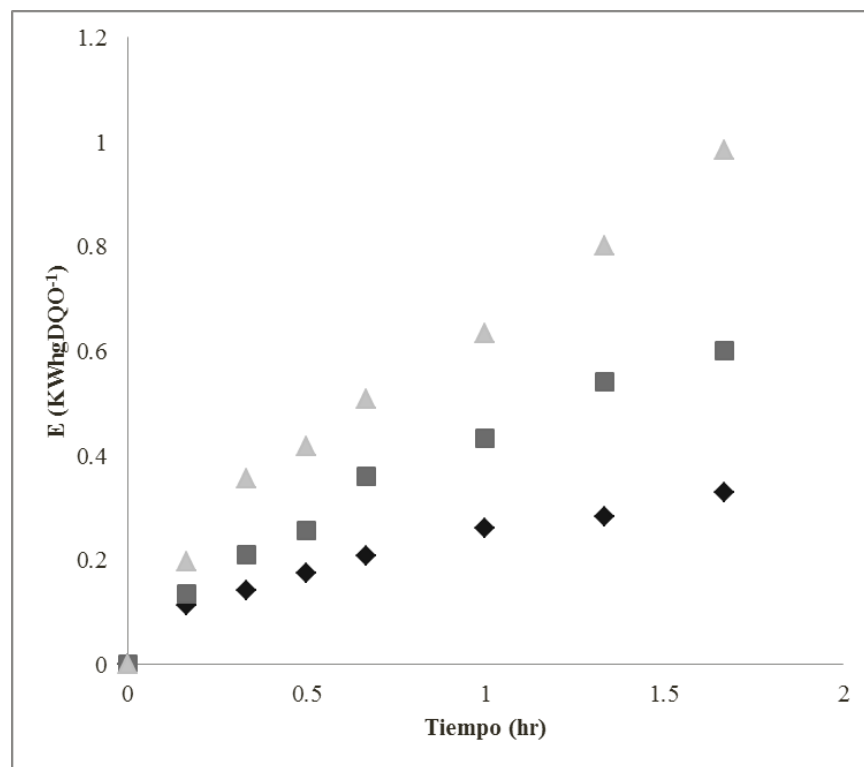
### 4.3 Resultados no publicados

En el proceso de electrooxidación es necesario evaluar el consumo de energía, que es expresado en Kw/h  $\text{mg}^{-1}\text{DQO}$  ya que es un factor importante en el costo del proceso de oxidación.

El consumo de energía se determinó utilizando el voltaje la celda (V), la corriente (I), el tiempo de electrooxidación (t), el volumen de la solución a tratar (v) y el valor de la DQO a los diferentes tiempos de reacción [76].

$$E = \frac{IV \Delta t}{(DQO_0 - DQO_t)v} \quad (4.1)$$

La figura 21 muestra el aumento del consumo de energía en relación con el incremento de la densidad de corriente aplicada utilizados de 20, 40 y 60  $\text{mAcm}^{-2}$ , con un pH de 3.



**Figura 21.** Consumo de energía a densidades de corriente de 20 (◆), 40(■) y 60 (▲)  $\text{mAcm}^{-2}$ .

El costo del proceso se observa en la tabla 9 a los diferentes valores de densidad de corriente aplicada 20, 40 y 60 mAcm<sup>-2</sup> con un pH de 3, considerando que el costo del Kw/h en la zona industrial de México es de 3 pesos.

**Tabla 9.** Costo del proceso de electrooxidación.

Tiempo (min)	Costo (pesos)		
	20 mA cm <sup>-2</sup>	40 mA cm <sup>-2</sup>	60 mA cm <sup>-2</sup>
<b>0</b>	0.00	0.00	0.00
<b>10</b>	0.34	2.30	0.59
<b>20</b>	0.43	3.56	1.07
<b>30</b>	0.53	4.36	1.25
<b>40</b>	0.62	6.13	1.52
<b>60</b>	0.78	7.36	1.90
<b>80</b>	0.85	9.20	2.40
<b>100</b>	0.99	10.22	2.95

Al reducir el tiempo de reacción del proceso de electrooxidación 80 min, se disminuye de manera considerable el costo de operación del proceso.



## Capítulo 5. Discusión General

El uso de plaguicidas organoclorados representa un problema de contaminación ambiental, el cual puede convertirse en un problema de salud pública. En el caso de endosulfán, al ser considerado como un compuesto orgánico persistente, es necesario evaluar tratamientos que permitan una remoción del compuesto así como de los productos de degradación que puedan generar. El uso de procesos avanzados de oxidación, como la electrooxidación y la ozonación, permiten una degradación del compuesto tratado que puede llegar hasta una mineralización del mismo, sin embargo estos procesos suelen ser de altos costos y pueden generar especies altamente reactivas; en este sentido se consideró utilizar un proceso acoplado de electrooxidación con electros de DDB y la ozonación; una vez que la solución de Thiodan® fue tratada con el proceso acoplado, se expuso a ella una macrofitas acuática (*Myriophyllum aquaticum*) para evaluar la tolerancia de la planta y posteriormente se pueda considerar un proceso acoplado de electrooxidación-ozonación-fitorremediación, en donde la fitorremediación sea un proceso de pulimiento y permita disminuir costos. Para el proceso de electrooxidación con electros de DDB, se logró una remoción de DQO del 97% a pH de 3, una densidad de corriente aplicada de  $60 \text{ mAcm}^{-2}$  y un tiempo de reacción de 100 min, mientras que en el proceso de ozonación únicamente se logró remover un 67% de DQO a pH de 3, una concentración de ozono de  $5 \text{ mgL}^{-1}$  y 100 min de reacción. En el proceso acoplado de EO-O<sub>3</sub>, se alcanzó un 95% de remoción de DQO y un 97% de COT. Con estos resultados se determinó reducir el tiempo de reacción con el proceso acoplado a 30 min, con este tiempo se logró remover un 83% de DQO, 84% de COT y la solución no mostró toxicidad mediante la prueba de Microtox®, por lo que, el tiempo de reacción se disminuyó a únicamente 20 min antes de exponer a *Myriophyllum aquaticum*.

Debido a que en los procesos avanzados de oxidación se generan especies altamente reactivas, se determinó la concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y del ion Cl<sup>-</sup> (ya que la molécula de endosulfán, está constituida por 6 átomos de cloro), en los procesos de manera individual y en el proceso acoplado. En el proceso de electrooxidación, se observó la mayor concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a los 30 min de reacción, la cual fue de  $4.59 \text{ mgL}^{-1}$ , para el caso del ion Cl<sup>-</sup>, en el proceso acoplado EO-O<sub>3</sub> se obtuvo la mayor concentración que fue de  $4 \text{ mgL}^{-1}$ , ambos efectos pueden ser atribuidos a las condiciones de trabajo como el pH.

Al exponer a *Myriophyllum aquaticum* a la solución tratada al 100 y 75%, la planta no logró sobrevivir, este comportamiento fue atribuido a las especies reactivas generadas en los procesos avanzados de oxidación, por lo que se decidió, dejar reposar la solución tratada por 0, 24, 48 y 72 h antes de exponer a *Myriophyllum aquaticum*, después de 24 h de reposo la planta mostró disminución significativa respecto a las plantas del sistema control, en el índice de crecimiento, producción de clorofilas y fue activado el mecanismo de protección antioxidante. Las plantas no mostraron variación significativa con respecto a las plantas del sistema control, al ser expuestas a la solución tratada con 48 h de reposo.

Debido a los resultados obtenidos en la remoción de DQO, COT, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y Cl<sup>-</sup>, así como en la pruebas de tolerancia con *Myriophyllum aquaticum*, se decidió evaluar soluciones de sulfato de sodio (electrolito soporte) con y sin tratamiento EO-O<sub>3</sub>, solución de Thiodan® con y sin tratamiento EO-O<sub>3</sub>, así como una mezcla de solución de Thiodan® sin tratamiento + sulfato de sodio con tratamiento, con el fin de evaluar si existía un efecto de potenciación. Se observó que la única solución que no generó efectos tóxicos sobre de *Myriophyllum aquaticum*, fue la solución de sulfato de sodio si tratamiento; en los demás casos las soluciones generaron disminución en el crecimiento de la planta, en la producción de pigmentos y se activó el mecanismo de protección antioxidante.

Una vez que se determinó la concentración y el tiempo de reposo de la solución tratada de Thiodan® en la cual *Myriophyllum aquaticum* mostró ser tolerante, se realizaron pruebas de fitotoxicidad en semillas de lechuga con las soluciones antes y después de estar en contacto con *Myriophyllum aquaticum*. En las semillas expuestas a las soluciones antes del contacto con la planta a concentraciones del 25, 50 y 100%, en todas las concentraciones se observó inhibición en el crecimiento de la raíz, raíces rizadas y necrosis, así como un efecto de inhibición de la elongación del hipocotilo y de la raíz. Para la soluciones que estuvieron en contacto con *Myriophyllum aquaticum*, la elongación tanto de hipocotilo como de raíz fue muy similar al de la semillas del sistema control, en todas las concentraciones. El efecto de inhibición de la elongación del hipocotilo y de la raíz, únicamente se mantuvo en la solución de sulfato de sodio con tratamiento al 100% y en la solución mezcla al 100%. De esta manera se logró observar que *Myriophyllum aquaticum* disminuyó la toxicidad de las soluciones tratadas con el proceso acoplado de EO-O<sub>3</sub>.



## Conclusiones



La presente investigación muestra los resultados de un proceso acoplado de electrooxidación – ozonación de una solución de Thiodan®, en donde se concluye que:

- ❖ En los procesos de electrooxidación y ozonación, el pH de la solución inicial de Thiodan® no afecta el % de remoción de DQO. Ambos procesos tienen una cinética de degradación de pseudo primer orden.
- ❖ En el proceso de electrooxidación al aumentar la densidad de corriente incrementa el % de remoción de DQO.
- ❖ El proceso acoplado incrementa la eficiencia en el % de remoción de DQO, comparado con los procesos de electrooxidación y ozonación, después de 30 min de reacción el % de remoción de DQO fue de 83%, para COT fue de 84% y la solución no mostró toxicidad.
- ❖ *Myriophyllum aquaticum* mostró efectos letales al ser expuesta a altas concentraciones de la solución de Thiodan® tratada por EO-O<sub>3</sub>, después de 7 días de exposición.
- ❖ La inducción de SOD y CAT demostraron que fue activado el mecanismos de protección antioxidante en las plantas expuestas a la solución de Thiodan® sin y con tratamiento, sulfato de sodio con tratamiento y la solución mezcla de Thiodan® sin tratamiento + sulfato de sodio con tratamiento con un tiempo de reposo de 24 h.
- ❖ El efecto toxico de la solución de Thiodan® sin tratamiento ocasionó daños a nivel de membrana reflejándose en un mayor lipoperoxidación.
- ❖ Los resultados muestran que tanto el Thiodan® como el proceso de EO-O<sub>3</sub> por sí mismo producen estrés oxidativo en la macrófita.
- ❖ Las semillas de *Lactuca sativa* mostraron efectos tóxicos al ser expuestas a las soluciones de Thiodan® y sulfato de sodio antes y después del proceso de EO-O<sub>3</sub>. Después de que las soluciones estuvieron expuestas a *Myriophyllum aquaticum*, el

efecto solo se mantuvo en la solución de sulfato de sodio con tratamiento y en la mezcla de Thiodan® sin tratamiento + sulfato de sodio con tratamiento.

- ✧ El efecto tóxico de las solución fue  $STWOT > STWOT + SEWT > STWT > SEWT > SEWOT$ .
- ✧ Con los resultados obtenidos se propone que la solución de Thiodan® tratada con EO-O<sub>3</sub> requiere un periodo de al menos 48 horas antes de continuar con un proceso de pulimiento como la fitorremediación o antes de ser vertido a un cuerpo de agua o de ser reusada.



## Referencias

- [1] García, G. M., y Martínez, P. C. C. (2015). Escenario del agua en México. *Revista de Cultura Científica y Tecnológica*, 6(30), 31-40.
- [2] Hernández, A. A., y Hansen, A. M. (2011). Uso de plaguicidas en dos zonas agrícolas de México y evaluación de la contaminación de agua y sedimentos. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 27(2), 115-127.
- [3] NOM-001-Semarnat-1996. (1997). Diario oficial de la Federación, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.
- [4] NOM-002-Semarnat-1996. (1998). Diario oficial de la Federación, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal.
- [5] NOM-003-Semarnat-1997. (1998). Diario oficial de la Federación, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para aguas residuales tratadas que son reusadas en servicios para el público.
- [6] NOM-004-Semarnat-2001. (2003). Diario oficial de la Federación, Protección Ambiental. Lodos y biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final.
- [7] Comisión Nacional del Agua. (2016). Estadísticas del agua en México. Edición 2016. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Comisión Nacional del Agua. 71.
- [8] Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, PNUMA. (2009). The environmental food crisis: The environment's role in averting future food crises. México [en línea]. [http://www.grida.no/files/publications/FoodCrisis\\_lores](http://www.grida.no/files/publications/FoodCrisis_lores), fecha de consulta: 14 marzo, 2017.
- [9] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO. (1997). Lucha Contra la Contaminación Agrícola de los Recursos Hídricos. (Estudio FAO Riego y Drenaje – 55. Depósito de documentos de FAO). Libro electrónico <http://www.fao.org/docrep/W2598S/w2598s00.htm>, fecha de consulta: 21 febrero, 2017.
- [10] Vargas, G. G., de Paul, A. R. V., Guigón, L. C., Cano, R. P., Jiménez, D. F., Vásquez, A. J., and García, C. M. (2016). Patrón de uso de plaguicidas de alto riesgo en el cultivo de melón (*Cucumis melo L.*) en la Comarca Lagunera. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 3(9), 367-378.
- [11] Gómez, S., Martínez, C., Carbajal, Y., Martínez, A., Calderón, M. E., Villalobos, R., y Waliszewski, S. M. (2013). Riesgo genotóxico por la exposición ocupacional a plaguicidas en América Latina. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29, 159-180.

- [12] United States Environmental Protection Agency, USEPA. (2014). About pesticides. Last updated on 5 August 2014. Artículo en línea, fecha de consulta 29 Agosto, 2014. <http://www.epa.gov/pesticides/about/index.htm>. 29/08/2014.
- [13] Hernández, A. y Hansen, A. M. (2011). Uso de plaguicidas en dos zonas agrícolas de México y evaluación de la contaminación de agua y sedimentos. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 27(2), 115-127.
- [14] García, C., y Rodríguez, G. D. (2012). Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa. *Ra Ximhai*, 8(3).
- [15] Peñaherrera, K. A., y Rocha, J. L. (2012). Diagnóstico y evaluación de los efluentes contaminantes por las florícolas en la acequia San Juan de la parroquia Mulalo, para el establecimiento de un plan de manejo ambiental. Tesis de grado. Universidad Técnica de Cotopaxi, Ecuador.
- [16] Pérez M. A., Segura A., García R., Colinas T., Pérez M., Vázquez A. y Navarro H. (2009). Residuos de plaguicidas organofosforados en cabeza de brócoli (*Brassica oleracea*) determinados por cromatografía de gases. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 25, 103-110.
- [17] Pérez, M. A., Navarro, H., y Miranda, E. (2013). Residuos de plaguicidas en hortalizas: Problemática y riesgos en México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29, 45-64.
- [18] Geissen, V., Ramos, F. Q., Bastidas, P., Díaz, G., Bello, R., Huerta, E., and Ruiz, L. E. (2010). Soil and water pollution in a banana production region in tropical Mexico. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. 85 (4), 407-413.
- [19] Salinas, E. S., y Ortíz L. H. (2011). Riesgos y estrategias en el uso de plaguicidas. *Inventio, la génesis de la cultura universitaria en Morelos*, (14), 21-27.
- [20] Ríos, A. (2013). Uso de modelos predictivos y conceptuales para la evaluación ambiental y el análisis de la percepción de riesgo por uso de plaguicidas: Una opción para el manejo de riesgos en Chiapas. Tesis Doctoral. El Colegio de la Frontera Sur, México.
- [21] Badii, M. H., y Landeros, J. (2015). Plaguicidas que afectan a la salud humana y la sustentabilidad. *Revista de Cultura Científica y Tecnológica*, 4(19), 21-34.
- [22] United National Environment Programme, UNEP. (2009). Endosulfan. Risk Profile. Adopted by the persistent Organic Pollutants Review Committee at its fifth meeting. October, 2009. Fecha de consulta 3 Marzo, 2017. <http://chm.pops.int/Convention/POPs%20Review%20Committee/Chemicals/tabid/781/1/language/en-GB/Default.aspx> UNEP/POPS/POPRC.5/10/Add.2

- [23] Morales, R. A. I. (2016). Análisis del comportamiento ambiental de los herbicidas de mayor uso en la subcuenca Río Tecolutla, Veracruz. Caso de estudio: Municipios de Tecolutla y Gutiérrez Zamora.
- [24] Ortiz, I., Ávila, M. A., y Torres, L. G. (2013). Plaguicidas en México: usos, riesgos y marco regulatorio. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, 4(1), 1-21.
- [25] Günter, A., Balsaa, P., Werres, F., and Schmidt, T. C. (2016). Influence of the drying step within disk-based solid-phase extraction both on the recovery and the limit of quantification of organochlorine pesticides in surface waters including suspended particulate matter. *Journal of Chromatography A*, 1450, 1-8.
- [26] Dang, V. D., Kroll, K. J., Supowit, S. D., Halden, R. U., and Denslow, N. D. (2016). Tissue distribution of organochlorine pesticides in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) from laboratory exposure and a contaminated lake. *Environmental Pollution*, 216, 877-883.
- [27] Li, W., Yang, H., Jiang, X., Liu, Q., Sun, Y., and Zhou, J. (2016). Residues and distribution of organochlorine pesticides in water and suspended particulate matter from Hangzhou Bay, East China Sea. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 96(3), 295-302.
- [28] Barron, M. G., Ashurova, Z. J., Kukaniev, M. A., Avloev, H. K., Khaidarov, K. K., Jamshedov, J. N., Rahnatullova, O. S., Atolikshoeva, S. S., Mamadshova, S. S., and Manzenyuk, O. (2017). Residues of organochlorine pesticides in surface soil and raw foods from rural areas of the Republic of Tajikistan. *Environmental Pollution*, 224, 494-502.
- [29] Romero, A. M., Tovar, S. E., Sánchez, S. E., Mussali, G. P., Sánchez M. J. C., Castrejón, G. M. L., Dantán, G. E., Trujillo, V. M.A., and Ortiz, H. M. L. (2014). *Penicillium* sp. as an organism that degrades endosulfan and reduces its genotoxic effects. *SpringerPlus*, 3(1), 536-546.
- [30] Weber, J., Halsall, C. J., Muir, D., Teixeira, C., Small, J., Solomon, K., Hermanson, M., Hung, H., and Bidleman, T. (2010). Endosulfan, a global pesticide: a review of its fate in the environment and occurrence in the Arctic. *Science of the Total Environment*, 408(15), 2966-2984.
- [31] Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. Endosulfán. Fecha de consulta: 7 marzo, 2017. <http://www.inecc.gob.mx/dgicurg/plaguicidas/pdf/endosulfan.pdf>
- [32] Téllez, B. M. C., Santerre, L., A., y Zaitseva, G. P. (2016). El sistema inmune como biomarcador de toxicidad por endosulfán en peces teleósteos y otros modelos de laboratorio. *Revista AquaTIC*, (33) 1-9.
- [33] Betancur, L. A., Ocampo, R., y Ríos, L. A. (2015). La problemática del endosulfán: aspectos químicos, analíticos y ambientales. *Revista Luna Azul*, (40) 293-313.

- [34] Agency for Toxic Substances and Disease Registry ToxFAQs. (2013) Endosulfan. Fecha de consulta: 2 Septiembre, 2017. [http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs41.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs41.html)
- [35] United National Environment Programme. UNEP-POPS-COP-CONVTEXT-2009. Endosulfan. Risk Profile. Adopted by the persistent Organic Pollutants Review.
- [36] Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2013) Division of Toxicology and Human Health Sciences. Endosulfan. Junio. Fecha de consulta: 2 Septiembre, 2017. [http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_toxfaqs.html#acerca](http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_toxfaqs.html#acerca)
- [37] Agency for Toxic Substances and Diseases Registry, ATSDR, 2015. Toxicological profile for Endosulfan.. Atlanta, Georgia. 203-213.
- [38] Pérez, D. J., Menone, M. L., Camadro, E. L., & Moreno, V. J. (2008). Genotoxicity evaluation of the insecticide endosulfan in the wetland macrophyte *Bidens laevis* L. *Environmental pollution*, 153(3), 695-698.
- [39] Ize, L. I. (2011). Diagnóstico de la situación del endosulfán en México. Instituto Nacional de Ecología.
- [40] United National Environment Programme, UNEP, 2009. Endosulfan. Risk Profile. Adopted by the persistent Organic Pollutants Review Committee at its fifth meeting. October, 2009. Fecha de consulta 10 Septiembre, 2014 <http://chm.pops.int/Convention/POPs%20Review%20Committee/Chemicals/tabid/781/1language/en-GB/Default.aspx> UNEP/POPS/POPRC.5/10/Add.2
- [41] United National Environment Programme UNEP, 2009. Endosulfan. Supporting document for the draft risk profile on endosulfan. Draft prepared by the ad hoc working group on Endosulfan Under the POPs Review Committee of the Stockholm Convention. July, 2009.
- [42] United National Environment Programme, UNEP, December 2010. Draft risk management evaluation: endosulfan. Advance copy UNEP/POPS/POPRC.6/13/Add.1 Fecha de consulta: 10 Septiembre, 2014. [www.pops.int](http://www.pops.int)
- [43] Riojas, H., Schilman, A., López, L., and Finkelman, J. (2013). Environmental health in Mexico: current situation and future prospects. *Salud pública de Mexico*, 55(6), 638-649.
- [44] Gomes, J., Amaya, A., Waliszewski, S. M., Colín, A., and García, M. M. (2013). Extraction and clean-up methods for organochlorine pesticides determination in milk. *Chemosphere*, 92(3), 233-246.
- [45] Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitario, COFEPRIS. Acciones para la eliminación de endosulfán en México. (2013). <http://www.rapam.org/endosulfn.html> fecha de consulta: 10 Septiembre 2017.

[46] Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitario, COFEPRIS. Catálogo de plaguicidas.

<http://www.cofepris.gob.mx/AZ/Paginas/Plaguicidas%20y%20Fertilizantes/CatalogoPlaguicidas.aspx> Fecha de consulta: 1 Septiembre, 2017.

[47] Rendón, von O. Residuos de endosulfan en diversos compartimentos ambientales de México Centro EPOMEX-Universidad Autónoma de Campeche, 2010 taller de endosulfán [www.inecc.gob.mx/.../2010\\_taller\\_endosulfan2\\_art\\_jrendon.pdf](http://www.inecc.gob.mx/.../2010_taller_endosulfan2_art_jrendon.pdf)

[48] Párraga, C., y Espinel, R. (2010). Análisis de la actividad agrícola como contaminante del agua, alternativas tecnológicas para la desinfección del agua para consumo humano en comunidades rurales y recursos legislativos para la prevención y su conservación.

[49] Atalay, S., y Ersöz, G. (2016). Novel Catalysts in Advanced Oxidation of Organic Pollutants. *SpringerBriefs in molecular science, Green chemistry for sustainability*.

[50] Cong, L., Guo, J., Liu, J., Shi, H., & Wang, M. (2014). Rapid degradation of Endosulfan by zero valent zinc in water and soil. *Journal of Environmental Management*, 30(1), e5.

[51] Rubí, J. H., Cotillas, S., Sáez, C., Cañizares, P., Barrera, D. C., and Rodrigo, M. A. (2016). Removal of herbicide glyphosate by conductive-diamond electrochemical oxidation. *Applied Catalysis B: Environmental*, 188, 305-312.

[52] Muñoz, J. F., y Orta, M. T. (2013). Efecto del ozono en la remoción de materia orgánica disuelta de un efluente secundario. *Revista EIA*, 9(18), 171-178.

[53] Barrera, C., Frontana, B., and Bilyeu, B. (2014). Removal of organic pollutants in industrial wastewater with an integrated system of copper electrocoagulation and electrogenerated H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Chemosphere*, 105, 160-164.

[54] Oturan, M. A., and Aaron, J. J. (2014). Advanced oxidation processes in water/wastewater treatment: principles and applications. A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 44(23), 2577-2641.

[55] Martín de Vidales, C. M. J. (2015). Eliminación de contaminantes orgánicos persistentes de aguas residuales mediante oxidación electroquímica con ánodo de diamante dopado con boro. Tesis doctoral. Universidad de Castilla-La Mancha, España.

[56] Barrera, D. C., Cañizares, P., Fernández, F. J., Natividad, R., and Rodrigo, M. A. (2014). Electrochemical advanced oxidation processes: an overview of the current applications to actual industrial effluents. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 58(3), 256-275.

[57] Cheng, M., Zeng, G., Huang, D., Lai, C., Xu, P., Zhang, C., & Liu, Y. (2016). Hydroxyl radicals based advanced oxidation processes (AOPs) for remediation of soils



contaminated with organic compounds: a review. *Chemical Engineering Journal*, 284, 582-598.

[58] Martínez, H. C. A., y Andrade, L. S. (2011). Electrocatalysis in wastewater treatment: recent mechanism advances. *Quimica Nova*, 34(5), 850-858.

[59] [http://lifepharmdegrade.arhel.si/?page\\_id=10](http://lifepharmdegrade.arhel.si/?page_id=10) consultada 14 mar 2017

[60] <http://www.bwater.eu/aop/titanium-aop/chemistry-at-work/> consultada 14 mar 2017

[61] Forero, J. E., Ortiz, O. P., y Rios, F. (2005). Aplicación de procesos de oxidación avanzada como tratamiento de fenol en aguas residuales industriales de refinería. *CT&F-Ciencia, tecnología y futuro*, 3(1), 97-109.

[62] Salas, G., y Neptalí, A. (2008). Tratamiento de las Aguas residuales de una refinería de petróleo por oxidación avanzada (AOX), usando el reactivo Fenton ( $H_2O_2/Fe^{2+}$ ). *Revista Perunana de Química e Ingeniería. Química*. 11(2), 12-18.

[63] Osorio, R. F., Torres, R. J. C. y Sánchez, B. M. (2010) Tratamiento de Aguas para la eliminación de microorganismos y agentes contaminantes. Madrid: Díaz de Santos, 47.

[64] Tapia, T. M. F. (2016). Tratamiento de aguas contaminadas con hidrocarburos por medio de procesos de oxidación avanzada y biofiltros. Tesis de Grado. Universidad Central del Ecuador, Ecuador.

[65] Poyatos, J.M., Muñio, M.M., Almecija, M.C., Torres, J.C., Hontoria, E., and Osorio, F. (2009). Advanced Oxidation Processes for Wastewater Treatment: State of the Art. *Water. Air. Soil Pollution*. 205, 187–204.

[66] Loures, C. C., Alcântara, M. A., Izário Filho, H. J., Teixeira, A. C. S. C., Silva, F. T., Paiva, T. C., and Samanamud, G. R. (2013). Advanced oxidative degradation processes: fundamentals and applications. *International Review of Chemical Engineering*, 5(2), 102-120.

[67] Sharma, S., Ruparelia, J.P., and Patel, M. L. (2011) A general review on advanced oxidation processes for waste water treatment. Institute of Technology, Nirma University, Ahmedabad, 382–481.

[68] Donoso, M. G. D. (2016). Eliminación de colorantes alimentarios en disolución acuosa mediante procesos químicos y electroquímicos de oxidación avanzada. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura, España.

[69] Barrera, D. C. E. (2014). Aplicaciones electroquímicas al tratamiento de aguas residuales. Mexico D.F: Reverte Ediciones.

[70] Comninellis, C., Kapalka, A., Malato, S., Parsons, S. A., Poullos, I., and Mantzavinos, D. (2008). Advanced oxidation processes for water treatment: advances and trends for R&D. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 83(6), 769-776.

[71] Palo, G. P. (2014). Eliminación de contaminantes farmacéuticos en agua mediante procesos físicos, químicos y electroquímicos. Optimización de los sistemas. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura, España.

[72] Rodríguez, M. A. H. (2009). Utilización de un sistema híbrido basado en filtración con membrana y electrooxidación avanzada para depurar efluentes complejos. Tesis de grado. Universidad de la Concepción, Chile.

[73] Ramírez C, Saldaña A, Hernández B, Acero R, Guerra R, García S, Brillas E. and Peralta, H. J.M. (2013). Electrochemical oxidation of methyl orange azo dye at pilot flow plant using BDD technology. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 19; 571-579.

[74] Haidar, M., Dirany, A., Sirés, I., Oturan, N., and Oturan, M. A. (2013). Electrochemical degradation of the antibiotic sulfachloropyridazine by hydroxyl radicals generated at a BDD anode. *Chemosphere*. 91, 1304–1309.

[75] Almeida, C. C. D., Costa, P. R. F. D., Melo, M. J. D. M., Santos, E. V. D., and Martínez, H. C. A. (2014). Application of Electrochemical Technology for Water Treatment of Brazilian Industry Effluents. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 58(3), 276-286.

[76] Comninellis, C., and Chen, G. (Eds.). (2010). *Electrochemistry for the Environment* (Vol. 2015). New York: Springer.

[77] Rodríguez, M. V., Peralta, M., y Ramírez, A. H. (2012). Generación in situ de especies oxidantes para la remoción del herbicida 2, 4-D en medio acuoso. *Ingenierías*, 15(57), 59.

[78] Cano, A., Cañizares, P., Barrera, C., Sáez, C. and Rodrigo, M. A. (2012). Use of conductive-diamond electrochemical-oxidation for the disinfection of several actual treated wastewaters. *Chemical Engineering Journal*, 211, 463-469.

[79] Linares, I., Barrera, C., Bilyeu, B., Juárez, P., and Campos, E. (2010). A combined electrocoagulation–electrooxidation treatment for industrial wastewater. *Journal of hazardous materials*, 175(1), 688-694.

[80] Mook, W. T., Aroua, M. K., and Issabayeva, G. (2014). Prospective applications of renewable energy based electrochemical systems in wastewater treatment: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 38, 36-46.

[81] Brinzilla, C., Pacheco, M., Ciríaco, L., Ciobanu R., and Lopes A. (2012). Electrodegradation of tetracycline on BDD anode. *Chemical Engineering Journal*. 209:54-61.

- [82] Errami, M., Salghi, R., Zarrouk, A., Chakir, A., Al-Deyab, S. S., Hammouti, B., and Zarrok, H. (2012). Electrochemical Combustion of Insecticides Endosulfan and Deltamethrin in Aqueous Medium Using A Boron-Doped Diamond Anode. *Int. J. Electrochem. Sci*, 7, 4272-4285.
- [83] Nasr, B., Hsen, T., and Abdellatif, G. (2009). Electrochemical treatment of aqueous wastes containing pyrogallol by BDD-anodic oxidation. *Journal of environmental management*, 90(1), 523-530.
- [84] Palma, R. E., Macías, J., y Torres, R. A. (2013). Tratamiento de aguas residuales de la provenientes de la industria. *Revista Colombiana de Materiales*, (4), 93-108.
- [85] Madhavan, J., Grieser, F., and Ashokkumar, M. (2010). Combined advanced oxidation processes for the synergistic degradation of ibuprofen in aqueous environments. *Journal of hazardous materials*, 178(1), 202-208.
- [86] Panizza, M., and Cerisola, G. (2009). Direct and mediated anodic oxidation of organic pollutants. *Chemical reviews*, 109(12), 6541-6569.
- [87] Moreira, F. C., Boaventura, R. A., Brillas, E., and Vilar, V. J. (2017). Electrochemical advanced oxidation processes: A review on their application to synthetic and real wastewaters. *Applied Catalysis B: Environmental*, 202, 217-261.
- [88] Martínez, H. C. A. (2007). Conductive diamond electrodes for water purification. *Materials Research*, 10(4), 419-424.
- [89] Angus J. C. (2011). *Electrochemistry on Diamond: History and Current Status*. Brillas E., Martínez-Huitle C.A. (Eds.), *Synthetic Diamond Films – Preparation, Electrochemistry, Characterization and Applications*, Wiley-VCH.
- [90] Srikanth S. and Jiang X. (2011). Synthesis of Diamond films. Brillas E., Martínez-Huitle C.A. (Eds.), *Synthetic Diamond Films – Preparation, Electrochemistry, Characterization and Applications*, Wiley-VCH.
- [91] Brillas, E., and Martínez, H. C. A. (2015). Decontamination of wastewaters containing synthetic organic dyes by electrochemical methods. An updated review. *Applied Catalysis B: Environmental*, 166, 603-643.
- [92] Frontistis, Z., Antonopoulou, M., Venieri, D., Konstantinou, I., and Mantzavinos, D. (2017). Boron-doped diamond oxidation of amoxicillin pharmaceutical formulation: Statistical evaluation of operating parameters, reaction pathways and antibacterial activity. *Journal of environmental management*, 195, 100-109.
- [93] Alfaro, M. A. Q., Ferro, S., Martínez, H. C. A., and Vong, Y. M. (2006). Boron doped diamond electrode for the wastewater treatment. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 17(2), 227-236.

- [94] Martínez, H. C. A., and Quiroz Alfaro, M. A. (2008). Recent environmental applications of diamond electrode: critical review. *Journal Environmental Engineering Management*, 18, 155-172.
- [95] Guenfoud, F., Mokhtari, M., and Akrouit, H. (2014). Electrochemical degradation of malachite green with BDD electrodes: Effect of electrochemical parameters. *Diamond and Related Materials*, 46, 8-14.
- [96] Kapałka A, Baltruschat H, and Comninellis C. (2011). *Electrochemical Oxidation of Organic Compounds Induced by Electro-Generated Free Hydroxyl Radicals on BDD Electrode*. Brillas E., Martínez-Huitle C.A. (Eds.), *Synthetic Diamond Films- Preparation, Electrochemistry, Characterization and Applications*, Wiley-VCH.
- [97] Cañizares, P., García-Gómez, J., Lobato, J., and Rodrigo, M. A. (2004). Modeling of wastewater electro-oxidation processes part I. General description and application to inactive electrodes. *Industrial & engineering chemistry research*, 43(9), 1915-1922.
- [98] Wang, J. L., & Xu, L. J. (2012). Advanced oxidation processes for wastewater treatment: formation of hydroxyl radical and application. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 42(3), 251-325.
- [99] Brillas, E., Sirés, I., Arias, C., Cabot, P. L., Centellas, F., Rodríguez, R. M., and Garrido, J. A. (2005). Mineralization of paracetamol in aqueous medium by anodic oxidation with a boron-doped diamond electrode. *Chemosphere*, 58(4), 399-406.
- [100] Murugananthan, M., Yoshihara, S., Rakuma, T., Uehara, N., & Shirakashi, T. (2007). Electrochemical degradation of 17 $\beta$ -estradiol (E2) at boron-doped diamond (Si/BDD) thin film electrode. *Electrochimica Acta*, 52(9), 3242-3249.
- [101] Nasr, B., Hsen, T., and Abdellatif, G. (2009). Electrochemical treatment of aqueous wastes containing pyrogallol by BDD-anodic oxidation. *Journal of environmental management*, 90(1), 523-530.
- [102] Sun, J., Lu, H., Du, L., Lin, H., and Li, H. (2011). Anodic oxidation of anthraquinone dye Alizarin Red S at Ti/BDD electrodes. *Applied Surface Science*, 257(15), 6667-6671.
- [103] Martínez, H. C. A., dos Santos, E. V., de Araújo, D. M., and Panizza, M. (2012). Applicability of diamond electrode/anode to the electrochemical treatment of a real textile effluent. *Journal of electroanalytical chemistry*, 674, 103-107.
- [104] Alves, S. A., Ferreira, T. C., Migliorini, F. L., Baldan, M. R., Ferreira, N. G., and Lanza, M. R. (2013). Electrochemical degradation of the insecticide methyl parathion using a boron-doped diamond film anode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 702, 1-7.
- [105] Solano, A. M. S., de Araújo, C. K. C., de Melo, J. V., Peralta-Hernandez, J. M., da Silva, D. R., and Martínez, H. C. A. (2013). Decontamination of real textile industrial effluent by strong oxidant species electrogenerated on diamond electrode: viability and

disadvantages of this electrochemical technology. *Applied Catalysis B: Environmental*, 130, 112-120.

[106] GilPavas, E., Dobrosz, G. I., and Gómez, G. M. Á. (2014). Degradación y Mineralización de Tartrazina mediante Electro-oxidación: Optimización de las Condiciones de Operación. *Información tecnológica*, 25(4), 163-174.

[107] Guenfoud, F., Mokhtari, M., and Akrouf, H. (2014). Electrochemical degradation of malachite green with BDD electrodes: Effect of electrochemical parameters. *Diamond and Related Materials*, 46, 8-14.

[108] Steter, J. R., Rocha, R. S., Dionísio, D., Lanza, M. R., and Motheo, A. J. (2014). Electrochemical oxidation route of methyl paraben on a boron-doped diamond anode. *Electrochimica Acta*, 117, 127-133.

[109] Salazar, C., Contreras, N., Mansilla, H. D., Yáñez, J., and Salazar, R. (2016). Electrochemical degradation of the antihypertensive losartan in aqueous medium by electro-oxidation with boron-doped diamond electrode. *Journal of hazardous materials*, 319, 84-92.

[110] Wang, L. K., Hung, Y. T., and Shammass, N. K. (Eds.). (2005). *Physicochemical treatment processes* (Vol. 3). Totowa, NJ: Humana Press.

[111] Knopp, G., Prasse, C., Ternes, T. A., and Cornel, P. (2016). Elimination of micropollutants and transformation products from a wastewater treatment plant effluent through pilot scale ozonation followed by various activated carbon and biological filters. *Water research*, 100, 580-592.

[112] <http://www.lenntech.es/ozono-datos.htm> fecha de consulta: 21 de junio 2017.

[113] Oyama, S. T. (2000). Chemical and catalytic properties of ozone. *Catalysis Reviews*, 42(3), 279-322.

[114] Alatorre, O. A., Ibanez, J. G., Mayen, M. R., Moran, M. M. T., Mattson, B., and Eskestrand, S. (2005). Laboratory experiments on the electrochemical remediation of the environment. Part 7: Microscale production of ozone. *J. Chem. Educ.*, 82(10), 1546.

[115] Forero, J. E., Ortiz, O. P., and Rios, F. (2005). Aplicación de procesos de oxidación avanzada como tratamiento de fenol en aguas residuales industriales de refinería. *CT&F-Ciencia, tecnología y futuro*, 3(1), 97-109.

[116] Lüddecke, F., Heß, S., Gallert, C., Winter, J., Guede, H., and Loeffler, H. (2015). Removal of total and antibiotic resistant bacteria in advanced wastewater treatment by ozonation in combination with different filtering techniques. *Water research*, 69, 243-251.

- [117] Derco, J., Dudáš, J., Valičková, M., Šimovičová, K., and Kecskés, J. (2015). Removal of micropollutants by ozone based processes. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 94, 78-84.
- [118] Litter, M.I. (2005). Introduction to photochemical advanced oxidation processes for water treatment". *Environmental Chemistry* 2, 325.
- [119] Hollender, J., Zimmermann, S. G., Koepke, S., Krauss, M., McArdell, C. S., Ort, C and Siegrist, H. (2009). Elimination of organic micropollutants in a municipal wastewater treatment plant upgraded with a full-scale post-ozonation followed by sand filtration. *Environmental Science & Technology*, 43(20), 7862-7869.
- [120] Huber, M. M., Göbel, A., Joss, A., Hermann, N., Löffler, D., McArdell, C. S. and von Gunten, U. (2005). Oxidation of pharmaceuticals during ozonation of municipal wastewater. *Environmental Science & Technology*, 39(12), 2001-2007. M. C., Buffle, M. O., and Von Gunten, U. (2006). Oxidation of antibacterial molecules by aqueous ozone: moiety-specific reaction kinetics and application to ozone-based wastewater treatment. *Environmental science & technology*, 40(6), 1969-1977.
- [121] Dodd, M. C., Buffle, M. O., and Von Gunten, U. (2006). Oxidation of antibacterial molecules by aqueous ozone: moiety-specific reaction kinetics and application to ozone-based wastewater treatment. *Environmental science & technology*, 40(6), 1969-1977.
- [122] Dodd, M. C., Kohler, H. P. E., and Von Gunten, U. (2009). Oxidation of antibacterial compounds by ozone and hydroxyl radical: elimination of biological activity during aqueous ozonation processes. *Environmental science & technology*, 43(7), 2498-2504.
- [123] Begum, A., and Gautam, S. (2012). Endosulfan and lindane degradation using ozonation. *Environmental technology*, 33(8), 943-949.
- [124] Mahamuni, N. N., and Adewuyi, Y. G. (2010). Advanced oxidation processes (AOPs) involving ultrasound for waste water treatment: a review with emphasis on cost estimation. *Ultrasonics sonochemistry*, 17(6), 990-1003.
- [125] Takeda, K., Fujisawa, K., Nojima, H., Kato, R., Ueki, R., & Sakugawa, H. (2017). Hydroxyl radical generation with a high power ultraviolet light emitting diode (UV-LED) and application for determination of hydroxyl radical reaction rate constants. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 340, 8-14.
- [126] Silva, A. M., Zilhão, N. R., Segundo, R. A., Azenha, M., Fidalgo, F., Silva, A. F., and Teixeira, J. (2012). Photo-Fenton plus Solanum nigrum L. weed plants integrated process for the abatement of highly concentrated metalaxyl on waste waters. *Chemical Engineering Journal*, 184, 213-220.
- [127] Peźiak-Kowalska, D., Fourcade, F., Niemczak, M., Amrane, A., Chrzanowski, Ł. and Lota, G. (2017). Removal of herbicidal ionic liquids by electrochemical advanced oxidation processes combined with biological treatment. *Environmental technology*, 38(9), 1093-1099.

- [128] Núñez, R., Meas, Y., Ortega, R., and Olgún, E. (2004). Fitorremediación: fundamentos y aplicaciones. *Ciencia. Revista de la Academia Mexicana de Ciencias*, 55, 69-82.
- [129] Delgadillo, L. A. E., González, R. C. A., Prieto, G. F., Villagómez, I. J. R., and Acevedo, S. O. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and subtropical Agroecosystems*, 14(2), 597-612.
- [130] Sharma, S., and Pathak, H. (2014). Basic techniques of phytoremediation. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 5(4), 584-604.
- [131] Moosavi, S. G., and Seghatoleslami, M. J. (2013). Phytoremediation: a review. *Advance in Agriculture and Biology*, 1(1), 5-11.
- [132] Kim, E. J. (2016). Phytoremediation for lightly toxic sites: Hazard perception and acceptance of remediation alternatives. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 22(4), 1078-1090.
- [133] Delgadillo, A. E., González, C. A., Prieto, F., Villagómez, J. R., y Acevedo, O. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 14(2), 597-612.
- [134] Martínez, S. A. A., Toro, F. M. B., Rojas, G. G., Giraldo, J. P. S. y Ángel, M. L. H. (2010). Fitorremediación con humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales porcinas. *Informador técnico*, (74), 12-22.
- [135] Akhtar, A. B. T., Yasar, A., Ali, R., & Irfan, R. (2017). Phytoremediation Using Aquatic Macrophytes. In *Phytoremediation* (pp. 259-276). Springer International Publishing.
- [136] Agudero, L. M., Macías, K. I., y Suárez, A. J. (2012). Fitorremediación: la alternativa para absorber metales pesados de los biosólidos. *Revista Lasallista de investigación*, 2(1) 57-60.
- [137] Lichtfouse, E. (2011). Alternative farming systems, biotechnology, drought stress and ecological fertilisation.
- [138] Caro, D. (2011). Pesticidas, C. Fitorremediación de suelos contaminados. *Revista química de la universidad Pablo de Olavide*, 4, 55-60.
- [139] Megharaj, M., Ramakrishnan, B., Venkateswarlu, K., Sethunathan, N. and Naidu, R. (2011). Bioremediation approaches for organic pollutants: a critical perspective. *Environment International*, 37(8), 1362-1375.
- [140] Perelo, L. W. (2010). Review: In situ and bioremediation of organic pollutants in aquatic sediments. *Journal of hazardous materials*, 177(1), 81-89.

- [141] Parmar, S., and Singh, V. (2015) Phytoremediation Approaches for Heavy Metal Pollution: A Review. *Journal of Plant Science and Research*, 2(2), 139.
- [142] Bornette, G., and Puijalón, S. (2011). Response of aquatic plants to abiotic factors: a review. *Aquatic Sciences*, 73(1), 1-14.
- [143] Schultz, R., and Dibble, E. (2012). Effects of invasive macrophytes on freshwater fish and macroinvertebrate communities: the role of invasive plant traits. *Hydrobiologia*, 684(1), 1-14.
- [144] García, P., Fernández, R. y Cirujano, S. (2009). "Macrófitos." *andalucia: margarita martínes acevedo, sacramento useo piernas*.
- [145] Núñez, L. G. (2017). Papel ecológico de los macrófitos en lagos y lagunas de montaña y factores determinantes de la composición de sus comunidades. Tesis Doctoral. Universidad de León, México.
- [146] Fukushima, T., Matsushita, B., Oyama, Y., Yang, W., and Jaelani, L. M. (2014). A critical review on monitoring of lake water quality and ecosystem information using satellite images: towards a new era of water color remote sensing. *Lakes: the mirrors of the earth*, 198.
- [147] Mackay, S., and James, C. (2016). Aquatic vascular macrophytes of Australia's riverine systems. *Vegetation of Australian riverine landscape: biology, ecology and management, 1st edn. CSIRO, Australia*, 87-102.
- [148] Heynes-Silerio, S. A., del Socorro González-Elizondo, M., Ruacho-González, L., González-Elizondo, M., and López-Enríquez, I. L. (2017). Vegetación de humedales del municipio de Durango, Durango, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 88(2), 358-364.
- [149] Carlander, K. D. (1997). *Handbook of freshwater fishery biology: Volume 3*. Iowa State University Press.
- [150] Wersal, R. M. (2010). The conceptual ecology and management of parrotfeather [*Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc.]. Mississippi State University.
- [151] Moody, M. L., and Les, D. H. (2010). Systematics of the aquatic angiosperm genus *Myriophyllum* (Haloragaceae). *Systematic Botany*, 35(1), 121-139.
- [152] You, W., Yu, D., Liu, C., Xie, D., and Xiong, W. (2013). Clonal integration facilitates invasiveness of the alien aquatic plant *Myriophyllum aquaticum* L. under heterogeneous water availability. *Hydrobiologia*, 718(1), 27-39.
- [153] Jeune, B., & Lacroix, C. R. (2009). A quantitative analysis of leaf growth parameters in *Myriophyllum aquaticum* (Haloragaceae). *Botany*, 87(9), 807-820.



[154] Hussner, A., Meyer, C., and Busch, J. (2009). The influence of water level and nutrient availability on growth and root system development of *Myriophyllum aquaticum*. *Weed Research*, 49(1), 73-80.

[155] Casanova, M. T. (2011). Using water plant functional groups to investigate environmental water requirements. *Freshwater Biology*, 56(12), 2637-2652.

[[156][https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=503904#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=503904#null). Fecha de consulta: 09 agosto, 2017.

[157] Arshid, S., Wani, A. A., Ganie, A. H., & Khuroo, A. A. (2016). On correct identification, range expansion and management implications of *Myriophyllum aquaticum* in Kashmir Himalaya, India. *Check List*, 7(3), 299-302.

[158] Wersal, R. M., and Madsen, J. D. (2011). Influences of water column nutrient loading on growth characteristics of the invasive aquatic macrophyte *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc. *Hydrobiologia*, 665(1), 93-105.

[159] Wersal, R. M., Cheshier, J. C., Madsen, J. D., and Gerard, P. D. (2011). Phenology, starch allocation, and environmental effects on *Myriophyllum aquaticum*. *Aquatic Botany*, 95(3), 194-199.

[160] Wersal, R. M., and Madsen, J. D. (2013). Influences of light intensity variations on growth characteristics of *Myriophyllum aquaticum*. *Journal of freshwater ecology*, 28(2), 147-164.

[161] Cano, C., Roa, G., Amaya, A., Valdés, R. A., Barrera, C. E., and Balderas, P. (2014). Tolerance of *Myriophyllum aquaticum* to exposure of industrial wastewater pretreatment with electrocoagulation and their efficiency in the removal of pollutants. *Journal of Environmental Biology*, 35(1).

[162] Schreiber, R., Harguinteguy, C. A., and Manetti, M. D. (2013). Dynamics of Organochlorine Contaminants in Surface Water and in *Myriophyllum aquaticum* Plants of the River Xanaes in Central Argentina During the Annual Dry Season. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 65(3), 466-473.

[163] Seriani, R. Abessa, D. M. S., Pereira, C. D. S., Kirschbaum, A. A., Assunção, A., Ranzani, P. M. J. T. (2013). Influence of seasonality and pollution on the hematological parameters of the estuarine fish *Centropomus parallelus*. *Brazilian Journal of Oceanography* 61(2), 105–111.

[164] Araújo, A. L. S., Guimarães ET, Seriani R (2014) Mutagenesis in *Tradescantia pallida* as a biomarker of the effects of water polluted with urban effluent. *Holos Environment* 14(1), 97–102.

- [165] Azevedo, J. S., Braga, E. S., Assis, H. C. E., Ribeiro, C. A. O (2013) Biochemical changes in the liver and gill of *Cathorops spixii* collected seasonally in two Brazilian estuaries under varying influences of anthropogenic activities. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 9, 220–230.
- [166] Fuzinato, C. F., Flohr, L., Melegari, S. P., and Matias, W. G. (2013). Induction of micronucleus of *Oreochromis niloticus* exposed to waters from the Cubatão do Sul River, southern Brazil. *Ecotoxicology Environmental Safety* 98, 103–109.
- [167] Dalzochio, T., Rodrigues, G. Z. P., Petry, I. E., Gehlen, G., and da Silva, L. B. (2016). The use of biomarkers to assess the health of aquatic ecosystems in Brazil: a review. *International Aquatic Research*, 1-16.
- [168] Wolfender, J. L., Rudaz, S., Hae Choi, Y., and Kyong Kim, H. (2013). Plant metabolomics: from holistic data to relevant biomarkers. *Current Medicinal Chemistry*, 20(8), 1056-1090.
- [169] Hook, S. E., Gallagher, E. P., and Batley, G. E. (2014). The role of biomarkers in the assessment of aquatic ecosystem health. *Integrated environmental assessment and management*, 10(3), 327-341.
- [170] Mussali, P., Tovar, E., Valverde, M., and Rojas Del Castillo, E. (2013). Biomarkers of exposure for assessing environmental metal pollution: from molecules to ecosystems. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29(1).
- [171] Hook, S. E. (2010) Promise and progress in environmental genomics: a status report on the applications of microarray studies in ecologically relevant fish species. *Journal of Fish Biology*, 77, 1999–2022.
- [172] Trapp, J., Armengaud, J., Salvador, A., Chaumot, A., and Geffard, O. (2014) Next-generation proteomics: toward customized biomarkers for environmental biomonitoring. *Environmental Science and Technology* 48, 13560–13572.
- [173] Ronzhina, D. A., Nekrasova, G. F., and P'yankov, V. I. (2004). Comparative characterization of the pigment complex in emergent, floating, and submerged leaves of hydrophytes. *Russian Journal of Plant Physiology*, 51(1), 21-27.
- [174] Armendáriz, S., Aquino, T., Romero, O., Sánchez, V., Sobrino, F., and Miranda M. G. (2008). Evaluación de dos parámetros bioquímicos en tres macrófitas acuáticas expuestas a cobre. *Polibotanica*, (26), 149-158.
- [175] Casierra, F., Ávila, O. F., and Riascos, D. H. (2012). cambios diarios del contenido de pigmentos fotosintéticos en hojas de caléndula bajo sol y sombra. *Temas Agrarios*, 17(1), 60-71.

- [176] Syafinar, R., Gomesh, N., Irwanto, M., Fareq, M., and Irwan, Y. M. (2015). Chlorophyll pigments as nature based dye for dye-sensitized solar cell (DSSC). *Energy Procedia*, 79, 896-902.
- [177] Vernon, L. P., and Seely, G. R. (Eds.). (2014). *The chlorophylls*. Academic press.
- [178] Blankenship, R. E. (2013). *Molecular mechanisms of photosynthesis*. John Wiley & Sons.
- [179] Meléndez, M. A. J., Vicario, I. M., y Heredia, F. J. (2007). Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 57(2), 109.
- [180] Navarro, V. A. P. (2015). Los Carotenoides y su aplicación en la Biotecnología Ambiental. Tesis de Grado. Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ecuador.
- [181] Cheng, Z., Yao, F., Yuan-wang, U., Hui-qing, C., Zhao-jun, L. I., and Jian-ming, X. (2017). Uptake and translocation of organic pollutants in plants: A review. *Journal of Integrative Agriculture*. 16(0), 60345-7.
- [182] Cárdenas, N., and Pedraza, J. (2006). Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes: aspectos básicos. *Educacion química*, 17(2), 164-173.
- [183] Guerrero, L. A., and Rodríguez, A. M. (2009). Efecto de la presencia de fenantreno sobre la expresión de proteínas y la actividad enzimática radical de *Cyperus hermaphroditus*. *Polibotánica*, (27), 103-130.
- [184] Pospíšil, P. (2016). Production of reactive oxygen species by photosystem II as a response to light and temperature stress. *Frontiers in plant science*, 7.
- [185] Considine, M. J., María Sandalio, L., and Helen Foyer, C. (2015). Unravelling how plants benefit from ROS and NO reactions, while resisting oxidative stress. *Annals of botany*, 116(4), 469-473.
- [186] Herrera Flores, T. S., Ortíz Cereceres, J., Delgado Alvarado, A., Galleros, A., y Alberto, J. (2014). Contenido de osmoprotectores, ácido ascórbico y ascorbato peroxidasa en hojas de frijol sometidas a estrés por sequía. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 5(5), 859-870.
- [187] Nath, M., Bhatt, D., Prasad, R., Gill, S. S., Anjum, N. A., and Tuteja, N. (2016). Reactive oxygen species generation-scavenging and signaling during plant-arbuscular mycorrhizal and Piriformospora indica interaction under stress condition. *Frontiers in plant science*, 7.
- [188] Huang, S., Van Aken, O., Schwarzländer, M., Belt, K., and Millar, A. H. (2016). The roles of mitochondrial reactive oxygen species in cellular signaling and stress response in plants. *Plant physiology*, 171(3), 1551-1559.

- [189] Demidchik, V. (2015). Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. *Environmental and Experimental Botany*, 109, 212-228.
- [190] Choudhury, F. K., Rivero, R. M., Blumwald, E., and Mittler, R. (2017). Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *The Plant Journal*, 90(5), 856-867.
- [191] Savvides, A., Ali, S., Tester, M., and Fotopoulos, V. (2016). Chemical priming of plants against multiple abiotic stresses: mission possible?. *Trends in plant science*, 21(4), 329-340.
- [192] Gill, S. S., and Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.
- [193] Xia, X. J., Zhou, Y. H., Shi, K., Zhou, J., Foyer, C. H., and Yu, J. Q. (2015). Interplay between reactive oxygen species and hormones in the control of plant development and stress tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 66(10), 2839-2856.
- [194] Nathan, C., and Cunningham-Bussel, A. (2013). Beyond oxidative stress: an immunologist's guide to reactive oxygen species. *Nature Reviews. Immunology*, 13(5), 349.
- [195] Rejeb, K. B., Abdelly, C., and Savouré, A. (2014). How reactive oxygen species and proline face stress together. *Plant Physiology and Biochemistry*, 80, 278-284.
- [196] Mignolet-Spruyt, L., Xu, E., Idänheimo, N., Hoerberichts, F. A., Mühlenbock, P., Brosché, M., and Kangasjärvi, J. (2016). Spreading the news: subcellular and organellar reactive oxygen species production and signalling. *Journal of experimental botany*, 67(13), 3831-3844.
- [197] Schmitt, F. J., Renger, G., Friedrich, T., Kreslavski, V. D., Zharmukhamedov, S. K., Los, D. A., and Allakhverdiev, S. I. (2014). Reactive oxygen species: re-evaluation of generation, monitoring and role in stress-signaling in phototrophic organisms. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1837(6), 835-848.
- [198] Sekmen, A. H., Ozgur, R., Uzilday, B., and Turkan, I. (2014). Reactive oxygen species scavenging capacities of cotton (*Gossypium hirsutum*) cultivars under combined drought and heat induced oxidative stress. *Environmental and experimental botany*, 99, 141-149.
- [199] Lushchak, V. I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-biological interactions*, 224, 164-175.
- [200] Choudhury, S., Panda, P., Sahoo, L., and Panda, S. K. (2013). Reactive oxygen species signaling in plants under abiotic stress. *Plant signaling & behavior*, 8(4), e23681.
- [201] Scheler, C., Durner, J., and Astier, J. (2013). Nitric oxide and reactive oxygen species in plant biotic interactions. *Current Opinion in Plant Biology*, 16(4), 534-539.

- [202] Kärkönen, A., and Kuchitsu, K. (2015). Reactive oxygen species in cell wall metabolism and development in plants. *Phytochemistry*, *112*, 22-32.
- [203] Dietz, K. J., Mittler, R., and Noctor, G. (2016). Recent progress in understanding the role of reactive oxygen species in plant cell signaling. *Plant physiology*, *171*(3), 1535-1539.
- [204] Zorov, D. B., Juhaszova, M., and Sollott, S. J. (2014). Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. *Physiological reviews*, *94*(3), 909-950.
- [205] Atashi, F., Modarressi, A., and Pepper, M. S. (2015). The role of reactive oxygen species in mesenchymal stem cell adipogenic and osteogenic differentiation: a review. *Stem cells and development*, *24*(10), 1150-1163.
- [206] Antoniou, C., Savvides, A., Christou, A., and Fotopoulos, V. (2016). Unravelling chemical priming machinery in plants: the role of reactive oxygen–nitrogen–sulfur species in abiotic stress tolerance enhancement. *Current opinion in plant biology*, *33*, 101-107.
- [207] Castillo, G., Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de aguas, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Santiago de Chile, 2003, pág. 17-22, 52, 71, 80.
- [208] Delgado, M. M. C. (2016). Modelaje del transporte y destino de los plaguicidas orgánicos persistentes identificados en el cultivo de la papa en Calimaya, Estado de México. Tesis de grado. Universidad Autónoma del Estado de México. México.
- [209] Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* *15*(3), 473-497
- [210] APHA, AWWA, 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21st Edition Edited by Andrew D. Eaton, AWWA; Leonore S. Clesceri, WEF; Eugene W Rice, and Arnold E. Greenberg, APHA; Mary Ann H. Franson. Washinton.
- [211] Latif, U., and Dickert, F. L. (2015). Chemical Oxygen Demand. In *Environmental Analysis by Electrochemical Sensors and Biosensors* (pp. 719-728). Springer New York.
- [212] Wijesekara R., Basnayake B., Vithanage M. (2014). “Organic-coated nanoparticulate zero valent iron for remediation of chemical oxygen demand (COD) and dissolved metals from tropical landfill leachate”. *Environmental Science and Pollution Research*. *21*,11.7075-7087.
- [213] Kondo T., Tamurat Y., Hoshino M., Watanabe T., Aikawa T., Yuasa M., Einaga Y. (2014). “Direct determination of chemical oxygen Ddemand by anodic decomposition of organic compounds at a diamond electrode”. *Analytical Chemistry*. *86*,16. 8066–8072.

[214] Shimadzu. TOC Analyzers. Información técnica. Fecha de consulta 30 octubre, 2017 <http://www.shimadzu.com/an/toc/lab/toc-l4.html>

[215] EN ISO 11348-3:2007, Waterquality – Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminiscent bacteria test) – Part 3: Method using freeze – dried bacteria.

[216] Hernández, F. F. J., Bayo, J., de los Ríos, A. P., Vicente, M. A., Bernal, F. J., and Quesada, M. J. (2015). Discovering less toxic ionic liquids by using the Microtox® toxicity test. *Ecotoxicology Environmental Safety* 116, 29-33.

[217] Zadorozhnaya O, Kirsanov D, Buzhinsky I, Tsarev F, Abramova N, Bratov A, Legin A. (2015). Water pollution monitoring by an artificial sensory system performing in terms of *Vibrio fischeri* bacteria. *Sens Actuators, B: Chemical*, 207, 1069-1075.

[218] Chang S C, Wang Y F, You SJ, Kuo YM, Tsai CH, Wang LC, Hsu PY. (2013). Toxicity evaluation of fly ash by Microtox®. *Aerosol and Air Quality Research*,13, 1002-1008.

[219] Skoog, D. A., West, D. M., & Holler, F. J. (2005). *Fundamentos de química analítica*. Editorial Thomson 8 edición.

[220] Flores, E. (1995). Voltametría cíclica: la espectroscopía electroquímica. Parte I. *Revista de Química*, 9(2), 165-172.

[221] Hunt, R. (1982). Plant growth curves. The functional approach to plant growth analysis. Edward Arnold Ltd.

[222] Wayne, R.P. Principles and applications of photochemistry. Oxford, England,1991.

[223] Eisenberg, G. (1943). Colorimetric determination of hydrogen peroxide. *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition*, 15(5), 327-328.

[224] EPA (United States. Environmental Protection Agency) (1994) Standard Operating Procedures, Chlorophyll Determination. SOP: 2030 In: U.S. Environmental Protection Agency. Washington D.C. USA. EP-W-09-031.

[225] Bradford M (1976) A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.

[226] Buege, J. A., and Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in enzymology*, 52, 302-310.

[227] Misra, P., and Fridovich, I. (1972) The Role of Superoxide Anion in the Autoxidation of Epinephrine and a Simple Assay for Superoxide Dismutase. *Journal of Biological chemistry*, 247, 3170-3175.

- [228] Aebi H (1984) Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 105:121-126
- [229] EPA (United States. Environmental Protection Agency) (1989) Protocols for short term toxicity screening of hazardous waste sites. A.8.7, Lettuce root elongation (*Lactuca sativa*). EUA, Chicago.
- [230] Freitas M, Rivas G, Campos C, López C, Agüera A, Pérez S (2017) Ecotoxicity evaluation of a WWTP effluent treated by solar photo-Fenton at neutral pH in a raceway pond reactor. *Environ Sci Pollut Res* 24(2):1093-1104.
- [231] Priac A, Badot M, Crini G (2017) Treated wastewater phytotoxicity assessment using *Lactuca sativa*: Focus on germination and root elongation test parameters. *Comps Rendus Biol* 340(3):188-194



## Anexos



**Anexo 1 Hoja de seguridad Thiodan®**

Bayer CropScience  
HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD

**THIODAN 35 EC**

Versión 1 / E  
10200000892

1/8  
Fecha de revisión: 12.08.2005  
Fecha de impresión: 05.05.2009

**1. IDENTIFICACIÓN DE LA SUSTANCIA O PREPARADO Y DE LA SOCIEDAD O EMPRESA****Información del producto**

Marca	THIODAN 35 EC
Código del producto (UVP)	05936705
Utilización	Insecticida
Compañía	Bayer S. A. Av. Santa Teresa 2.245 c/ Aviadores del Chaco Teléfono: 595 21 617 3500 - Fax: 595 21 617 3501 Asunción - Paraguay
Proveedor	Bayer S. A. Rua Verbo Divino, 1207 Bloco B – Térreo Chácara Santo Antonio CEP 04719-002 San Pablo/SP - Brasil Tel: 0 800 01 15560 Email: telebayercropscience@bayercropscience.com Tel de emergencia: 0 800 7010450

**2. COMPOSICIÓN / INFORMACIÓN SOBRE LOS COMPONENTES****Naturaleza química**

Concentrado emulsionable (EC)  
Endosulfan 350 g/l

**Componentes peligrosos**

Nombre químico	NºCAS / Nº EINECS	Símbolo(s)	Frase(s) - R	Concentración [%]
Endosulfan	115-29-7 204-079-4	T, N	R24/25, R36, R50/53	34,00
Nafta disolvente (petróleo), fracción aromática ligera		Xn, N	R10, R37, R51/53, R65, R66, R67	> 40,00 - < 60,00
Tetrapropileno benceno sulfonato cálcico	11117-11-6 234-360-7	C	R21, R34, R52/53	< 3,00
2-Metilpropan-1-ol	78-83-1 201-148-0	Xi	R10, R37/38, R41, R67	< 2,00

**3. IDENTIFICACION DE LOS PELIGROS****Advertencia de riesgo para el hombre y para el medio ambiente**

Inflamable.  
Tóxico en contacto con la piel.  
Tóxico por ingestión.  
Irrita la piel.  
Riesgo de lesiones oculares graves.  
Muy tóxico para los organismos acuáticos, puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático.  
Nocivo: si se ingiere puede causar daño pulmonar.

Bayer CropScience  
HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD



## THIODAN 35 EC

Versión 1 / E  
10200000892

2/8

Fecha de revisión: 12.08.2005  
Fecha de impresión: 05.05.2009

### 4. PRIMEROS AUXILIOS

#### Inhalación

En caso de accidente por inhalación, alejar a la víctima de la zona contaminada y mantenerla en reposo. Llame inmediatamente al médico.

#### Contacto con la piel

Quítese inmediatamente la ropa contaminada. Lávese inmediatamente con jabón y agua abundante. Llame inmediatamente al médico.

#### Contacto con los ojos

En caso de contacto con los ojos, lávenlos inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico.

#### Ingestión

En caso de ingestión, acuda inmediatamente al médico y muéstrela la etiqueta o el envase. Inducir vómito si el paciente está totalmente consciente, han pasado menos de 2 horas desde la ingestión y no se puede obtener ayuda médica fácilmente. (el vómito no debe llegar al tracto respiratorio) Enjuagar la boca cuidadosamente y a fondo con agua.

#### Notas para el médico

##### Síntomas

Local: irritación grave, Sistémico: mareos, dolor de cabeza, ataxia, náusea, vómitos, dolor abdominal, inconsciencia, convulsiones

##### Riesgos

Puede haber efectos neurológicos retrasados, incluyendo edema cerebral.  
En caso de ingestión o vómitos, peligro de aspiración pulmonar.  
NO confundir con compuestos organofosforados!

##### Tratamiento

Auxilios elementales, descontaminación y tratamiento sintomático.  
Se deberá aplicar intubación endotraqueal y hacer un lavado gástrico, seguidos de administración de carbón animal y después de una solución acuosa de sulfato de magnesio o de sodio al 30%.  
Controlar: sistemas respiratorio, cardíaco, riñón, hígado y sistema nervioso central.  
Control de electrocardiograma.  
Control de electroencefalograma.  
Eliminación por diuresis alcalina forzada.  
Tratamiento de las convulsiones con fenobarbital y, según caso, con diazepam por vía intravenosa; gluconato cálcico 10% por vía intravenosa.  
Contraindicados: derivados de adrenalina, derivados de morfina, atropina, obidoxima.

### 5. MEDIDAS DE LUCHA CONTRA INCENDIOS

#### Medios de extinción adecuados

Espuma  
Dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>)  
Polvo seco  
Agua pulverizada

#### Peligros específicos para la lucha contra el fuego

En caso de incendio puede(n) desprenderse:  
Monóxido de carbono (CO)  
Óxidos de azufre  
Acido clorhídrico (HCl)

#### Equipo de protección especial para los bomberos

Bayer CropScience  
HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD



## THIODAN 35 EC

Versión 1 / E  
10200000892

3/8

Fecha de revisión: 12.08.2005  
Fecha de impresión: 05.05.2009

En caso de fuego, protéjase con un equipo respiratorio autónomo.  
Llevar ropa de protección total.

### Información adicional

El agua de extinción debe recogerse por separado, no debe penetrar en el alcantarillado.  
Si no se puede retirar el producto de la zona de incendio, refrigerar con agua los envases y reducir el calor para evitar que aumente la presión en los envases.

## 6. MEDIDAS EN CASO DE VERTIDO ACCIDENTAL

### Precauciones personales

Utilícese equipo de protección individual.  
Evacuar el personal a zonas seguras.

### Precauciones para la protección del medio ambiente

No echar al agua superficial o al sistema de alcantarillado sanitario.

### Métodos de limpieza

Recoger con material absorbente (p. ej. arena, tierra de infusorios, absorbente universal).  
Llevar a eliminar en recipientes provistos de cierre seguro.

### Consejos adicionales

Indicaciones relativas a manipulación segura, ver apartado 7.  
Indicaciones relativas al equipo de protección individual, ver apartado 8.  
Indicaciones relativas a eliminación de residuos, ver apartado 13.  
Verificar también la existencia de procedimientos internos en el centro de trabajo.

## 7. MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO

### Manipulación

Consejos para una manipulación segura  
Asegúrese una ventilación apropiada.

Indicaciones para la protección contra incendio y explosión

El producto es inflamable.  
Manténgase separado del calor y de las fuentes de ignición.

Indicaciones para la protección contra incendio y explosión

El producto no es sensible a impacto y/o fricción y por lo tanto, no provoca explosiones.

### Almacenamiento

Exigencias técnicas para almacenes y recipientes

Cerrar los recipientes herméticamente y mantenerlos en lugar seco, fresco y bien ventilado.  
Mantener alejado de la luz directa del sol.  
Proteger de las heladas.

Indicaciones para el almacenamiento conjunto

Manténgase separado de alimentos, bebidas y piensos.

Estabilidad en almacén

Tiempo de almacenamiento	24 Meses
Temperatura de almacenamiento	25 °C
Otros datos	Almacenar a temperatura entre 0 y 30 °C , máx. 50 °C.

Materiales adecuados

Vidrio  
Botellas de polietileno con revestimiento interior de poliamida (coex)

Bayer CropScience  
HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD



### THIODAN 35 EC

Versión 1 / E  
10200000892

4/8

Fecha de revisión: 12.08.2005  
Fecha de impresión: 05.05.2009

Acero pintado al horno  
Material no adecuado  
Polietileno, goma

## 8. CONTROLES DE LA EXPOSICIÓN Y PROTECCIÓN PERSONAL

### Componentes con valores límite a controlar en el lugar de trabajo

Componentes	No. CAS	Parámetros de control	Puesto al día	Base
Endosulfan	115-29-7	0,1 mg/m <sup>3</sup> (VLA-ED)	2004	VLA (ES)
2-Metilpropan-1-ol	78-83-1	154 mg/m <sup>3</sup> / 50 ppm (VLA-ED)	2004	VLA (ES)

### Disposiciones de ingeniería

Ver apartado 7; no se requieren medidas adicionales.

### Protección personal

Protección respiratoria	Durante corte tiempo puede utilizarse equipo respiratorio con filtro combinado A-P3.
Protección de las manos	Guantes desechables de PVC. Caucho nitrilo.
Protección de la piel y del cuerpo	Ropa ligera de protección, de PVC.
Medidas de higiene	No comer o beber, ni fumar durante el trabajo. Lavarse las manos y la cara antes de los descansos y después del trabajo.
Medidas de protección	Evitar contacto con piel y ojos.

## 9. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

### Aspecto

Estado físico	Líquido
Color	De pardo claro a pardo oscuro
Olor	Aromático

### Datos de Seguridad

Punto de inflamación	48 °C copa cerrada
Temperatura de autoignición	435 °C a 1.000 hPa92/69 /EWG, A.15
Densidad	aprox. 1,07 g/cm <sup>3</sup> a 20 °C
Solubilidad	Soluble en hidrocarburos aromáticos
Hidrosolubilidad	Emulsionable
Viscosidad, cinemática	2,01 mm <sup>2</sup> /s a 40 °C
Tensión superficial	28,9 mN/m a 40 °C
Sensibilidad al impacto	No sensible al impacto
Explosividad	No explosivo

Bayer CropScience  
HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD



## THIODAN 35 EC

Versión 1 / E  
10200000892

5/8

Fecha de revisión: 12.08.2005  
Fecha de impresión: 05.05.2009

### 10. ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD

Productos de descomposición peligrosos	Óxidos de azufre compuestos de cloro
Reacciones peligrosas	Estable bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas.

### 11. INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA

Toxicidad oral aguda	DL <sub>50</sub> (rata) 40 mg/kg
Toxicidad oral aguda	DL <sub>50</sub> (conejo) 34 mg/kg
Toxicidad dérmica aguda	DL <sub>50</sub> (rata) 266 mg/kg Se realizó el ensayo con un producto formulado de características similares.
Irritación de la piel	Irritante (conejo) Se realizó el ensayo con un producto formulado de características similares.
Irritación de los ojos	Riesgo de lesiones oculares graves. (conejo) Se realizó el ensayo con un producto formulado de características similares.
Sensibilización	No sensibilizante (conejillo de indias) OCDE Línea Directriz de Prueba 406, Prueba de Buehler Se realizó el ensayo con un producto formulado de características similares.

### 12. INFORMACIÓN ECOLÓGICA

#### Efectos ecotoxicológicos

Toxicidad para peces	CL <sub>50</sub> (Trucha arco iris ( <i>Oncorhynchus Mykiss</i> )) 2,1 µg/l Tiempo de exposición: 96 h Se realizó el ensayo con un producto formulado de características similares.
Toxicidad para dafnia	CE <sub>50</sub> ( <i>Dafnia Magna</i> ) 0,004 mg/l Tiempo de exposición: 48 h Se realizó el ensayo con un producto formulado de características similares.
Toxicidad para las algas	( <i>Scenedesmus Subspicatus</i> ) > 0,56 mg/l Tiempo de exposición: 72 h El valor indicado corresponde a la materia activa técnica endosulfan.

### 13. CONSIDERACIONES SOBRE LA ELIMINACIÓN

#### Producto

No eliminar el desecho en el alcantarillado.  
Debe incinerarse en una planta incineradora adecuada que esté en posesión de un permiso otorgado por las autoridades competentes.

Bayer CropScience  
HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD



## THIODAN 35 EC

Versión 1 / E  
10200000892

6/8

Fecha de revisión: 12.08.2005  
Fecha de impresión: 05.05.2009

### Envases contaminados

Enjuagar los recipientes vacíos con agua y usar esta agua de limpieza para preparar el caldo de pulverización.

Perforar el envase para evitar su reutilización.

Los envases vacíos deben ser reciclados o eliminados como residuo.

Envases/embalajes que no pueden ser limpiados deben ser eliminados de la misma forma que el producto contenido.

## 14. INFORMACIÓN RELATIVA AL TRANSPORTE

### ADR/RID/ADNR

N° ONU	<b>2995</b>
Etiquetas	6.1 (3)
Grupo embalaje	II
N° de peligro	63
Descripción de los productos	UN 2995 PLAGUICIDA ÓRGANOCOLORADO LÍQUIDO TÓXICO, INFLAMABLE (Endosulfan, disolvente nafta (Petróleo) fracción aromática ligera en solución)

### IMDG

N° ONU	<b>2995</b>
Clase	6.1
Grupo embalaje	II
EmS	F-E , S-D
Contaminante marino	Contaminante del mar
Descripción de los productos	PLAGUICIDA LIQUIDO, TOXICO , A BASE DE COMPUESTOS ORGANOCOLORADOS, INFLAMABLE (Endosulfan, disolvente nafta (Petróleo) fracción aromática ligera en solución) ORGANOCHLORINE PESTICIDE, LIQUID, TOXIC, FLAMMABLE (Endosulfan, solvent naphtha (Petroleum) light aromatic solution)

### IATA

N° ONU	<b>2995</b>
Clase	6.1
Grupo embalaje	II
Descripción de los productos	PLAGUICIDA ORGANICO CLORADO, LIQUIDO, TOXICO, INFLAMABLE (Endosulfan, disolvente nafta (Petróleo) fracción aromática ligera en solución) ORGANOCHLORINE PESTICIDE, LIQUID, TOXIC, FLAMMABLE (Endosulfan, solvent naphtha (Petroleum) light aromatic solution)

## 15. INFORMACIÓN REGLAMENTARIA

Clasificación y etiquetado según Directivas CE sobre preparados peligrosos 1999/45/CE, y sus

Bayer CropScience  
HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD



### THIODAN 35 EC

Versión 1 / E  
10200000892

7/8

Fecha de revisión: 12.08.2005  
Fecha de impresión: 05.05.2009

enmiendas.

Clasificación:

Requiere etiqueta

Componentes determinantes del peligro para el etiquetado:

- Endosulfan
- Nafta Disolvente (petróleo), fracción aromática ligera

Símbolo(s)

T Tóxico  
N Peligroso para el medio ambiente

Frase(s) - R

R10 Inflamable.  
R24/25 Tóxico en contacto con la piel y por ingestión.  
R38 Irrita la piel.  
R41 Riesgo de lesiones oculares graves.  
R50/53 Muy tóxico para los organismos acuáticos, puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático.  
R65 Nocivo: si se ingiere puede causar daño pulmonar.

Frase(s) - S

S26 En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico.  
S35 Elimínense los residuos del producto y sus recipientes con todas las precauciones posibles.  
S36/37/39 Úsense indumentaria y guantes adecuados y protección para los ojos/la cara.  
S45 En caso de accidente o malestar, acúdase inmediatamente al médico (si es posible, muéstresele la etiqueta).  
S57 Utilícese un envase de seguridad adecuado para evitar la contaminación del medio ambiente.

Etiquetado adicional

A fin de evitar riesgos para las personas y el medio ambiente, siga las instrucciones de uso.

Etiquetado adicional

Restringido a usos profesionales.

Información adicional

Clasificación OMS: Ib (Altamente peligroso)

Medidas preventivas de medicina laboral

Deben tenerse en cuenta las limitaciones vigentes para el empleo de jóvenes en determinadas tareas: 94/33/EC

## 16. OTRA INFORMACIÓN

### Información adicional

Texto de las frases R mencionadas en la Sección 2:

R10 Inflamable.  
R21 Nocivo en contacto con la piel.  
R24/25 Tóxico en contacto con la piel y por ingestión.  
R34 Provoca quemaduras.  
R36 Irrita los ojos.  
R37 Irrita las vías respiratorias.  
R37/38 Irrita las vías respiratorias y la piel.

Bayer CropScience  
HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD



### THIODAN 35 EC

Versión 1 / E  
10200000892

8/8  
Fecha de revisión: 12.08.2005  
Fecha de impresión: 05.05.2009

R41	Riesgo de lesiones oculares graves.
R50/53	Muy tóxico para los organismos acuáticos, puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático.
R51/53	Tóxico para los organismos acuáticos, puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático.
R52/53	Nocivo para los organismos acuáticos, puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático.
R65	Nocivo: si se ingiere puede causar daño pulmonar.
R66	La exposición repetida puede provocar sequedad o formación de grietas en la piel.
R67	La inhalación de vapores puede provocar somnolencia y vértigo.

Esta información se basa en el estado actual de nuestros conocimientos. Su objetivo es describir nuestros productos desde el punto de vista de la seguridad, por lo que no garantiza propiedades concretas de los productos.

La información incluida en esta Ficha de Datos de Seguridad es conforme a las disposiciones de la Directiva 1991/155/CE y sus actualizaciones posteriores. Esta ficha de datos de seguridad complementa a las instrucciones técnicas para el usuario, pero no las reemplaza. Los datos que contiene están basados en el conocimiento disponible sobre el producto concernido, en la fecha de revisión indicada. Se advierte encarecidamente a los usuarios de los posibles riesgos que supone usar un producto con otros propósitos distintos para los que había sido creado. La información dada es conforme a las disposiciones reglamentarias comunitarias en vigor. Se requiere de los destinatarios de esta ficha que observen cualquier requisito reglamentario nacional adicional.

Los cambios desde la última versión serán destacados en el margen. Esta versión reemplaza todas las versiones anteriores. Adaptación del original ENDOSULFAN EC 352 G U-WW, versión 1 / E 10200000892.



## Anexo 2. Determinación de Ozono en Fase Acuosa

El método se basa en la decoloración de la tintura por ozono, donde la pérdida de color es directamente proporcional a la concentración de ozono. La muestra es generalmente ajustada a cerca de pH 2 para minimizar la destrucción del ozono por reacción con los iones de hidróxido. El procedimiento analítico más común resta la absorbancia de trisulfonato índigo después de reacción con una muestra de la de un blanco libre de ozono. La constante de proporcionalidad a 600 nm es  $0.42 \pm 0.01$  cm/mg/L.

Solución madre de índigo: En un matraz aforado de 1 litro, se agregaron 500 mL de agua, 1 mL de ácido fosfórico concentrado, 770 mg de trisulfonato potásico de índigo y se aforó con agua destilada. Una dilución de 1:100 exhibe una absorbancia de 0.02 cm a 600 nm. LA SOLUCIÓN MADRE ES ESTABLE POR CUATRO MESES ALMACENADA EN FRASCO ÁMBAR.

Reactivo I. En un matraz aforado de 1 L, se adicionaron 20 mL de solución madre, 10 g de fosfato monobásico de sodio, 7 mL de ácido fosfórico concentrado y se aforó con agua destilada (almacenar en frasco ámbar).

Reactivo II. Se procedió como el reactivo I, añadiendo 100 mL de solución madre en lugar de 20 mL. ES ESTABLE POR UNA SEMANA ALMACENADA EN FRASCO ÁMBAR.

Procedimiento espectrofotométrico: Para concentraciones de ozono superiores a  $0.3 \text{ mg L}^{-1}$  se debe utilizar el reactivo índigo II (10 mL) y diluir a 100 mL con agua destilada.

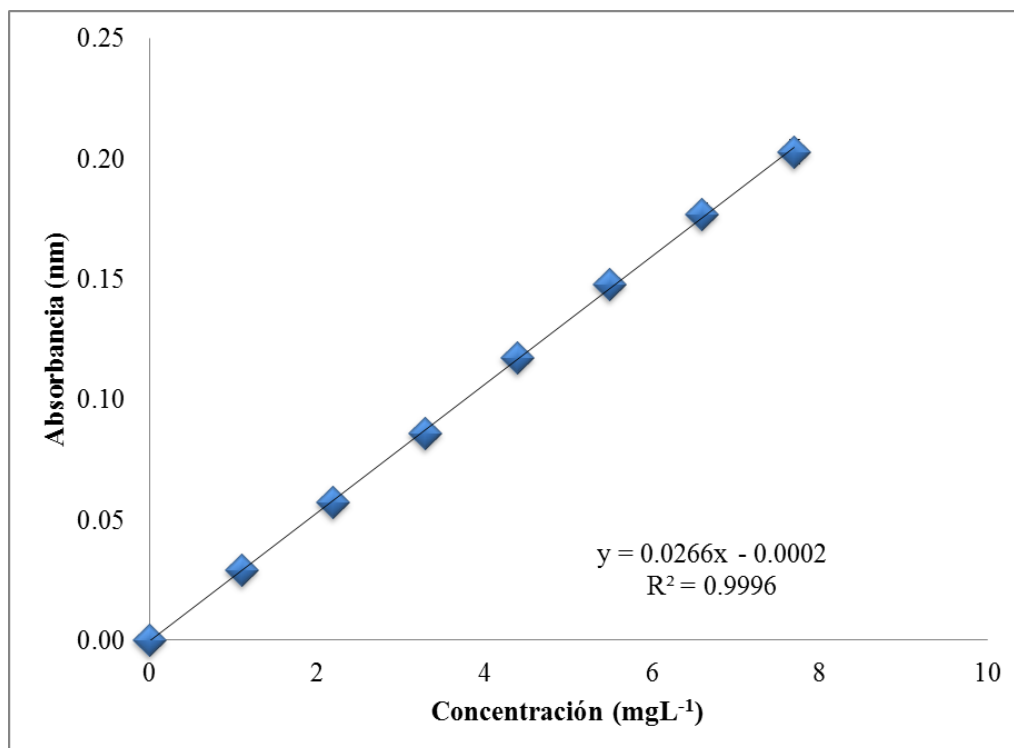
Para muestra se colocaron 10 mL del reactivo índigo II y 90 mL de la muestra, se homogenizó perfectamente y leyó en UV-Vis. La concentración de ozono se determinó de acuerdo a la ecuación 1A.

$$[O_3]_R = (A_b - A_m) * \frac{(100)}{(0.02652)} * (V_m)(C) \quad (1A)$$

donde  $[O_3]_R$  es el ozono residual en fase acuosa ( $\text{mg L}^{-1}$ ),  $A_b$  es la absorbancia del blanco,  $A_m$  es la absorbancia de la muestra, 0.02652 es el factor de sensibilidad de 20,000 / cm para el cambio de absorbancia (600 nm) por mol de ozono añadido por litro,  $V_m$  es el volumen de muestra (mL) y  $C$  es el recorrido de la luz en la celda (cm).

**Tabla 1A.** Curva de calibración de trisulfonato índigo para determinación de ozono.

Concentración	Abs Curva 1	Abs Curva 2	Abs Curva 3	Promedio	DE
0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
1.1	0.0292	0.0299	0.0293	0.0295	0.0004
2.2	0.0588	0.0564	0.0572	0.0574	0.0012
3.3	0.0875	0.0852	0.0852	0.0859	0.0014
4.4	0.1172	0.1185	0.1170	0.1175	0.0008
5.5	0.1509	0.1483	0.1445	0.1479	0.0032
6.6	0.1819	0.1766	0.1726	0.1770	0.0047
7.7	0.2080	0.2020	0.1981	0.2027	0.0050

**Fig. 1A** Curva de calibración de trisulfonato potásico de índigo.

### Anexo 3. Medio nutritivo MS

**Tabla 2A.** Reactivos para preparación de medio nutritivo MS

Macronutrientes (g/L)		Micronutrientes (mg/L)	
<b>NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub></b>	1.65	<b>KI</b>	0.083
<b>KNO<sub>3</sub></b>	1.9	<b>H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b>	6.2
<b>CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O</b>	0.440	<b>MnSO<sub>4</sub>.4H<sub>2</sub>O</b>	22.3
<b>MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>	0.370	<b>ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>	8.6
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	0.170	<b>Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O</b>	0.025
<b>FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>	0.0278	<b>CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O</b>	0.025
<b>EDTA</b>	0.0373	<b>CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O</b>	0.025

Diluir en 1 litro de agua destilada

### Anexo 4. Solución extracción de enzimas pH 7

La solución se preparó pesando 5.306 g de fosfato de potasio tribásico (K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.nH<sub>2</sub>O 0.1 M), 0.0093125 g de EDTA (0.1 mM) y 10 g polivinilpirrolidona (5%) y se aforó a 250 mL con agua destilada.

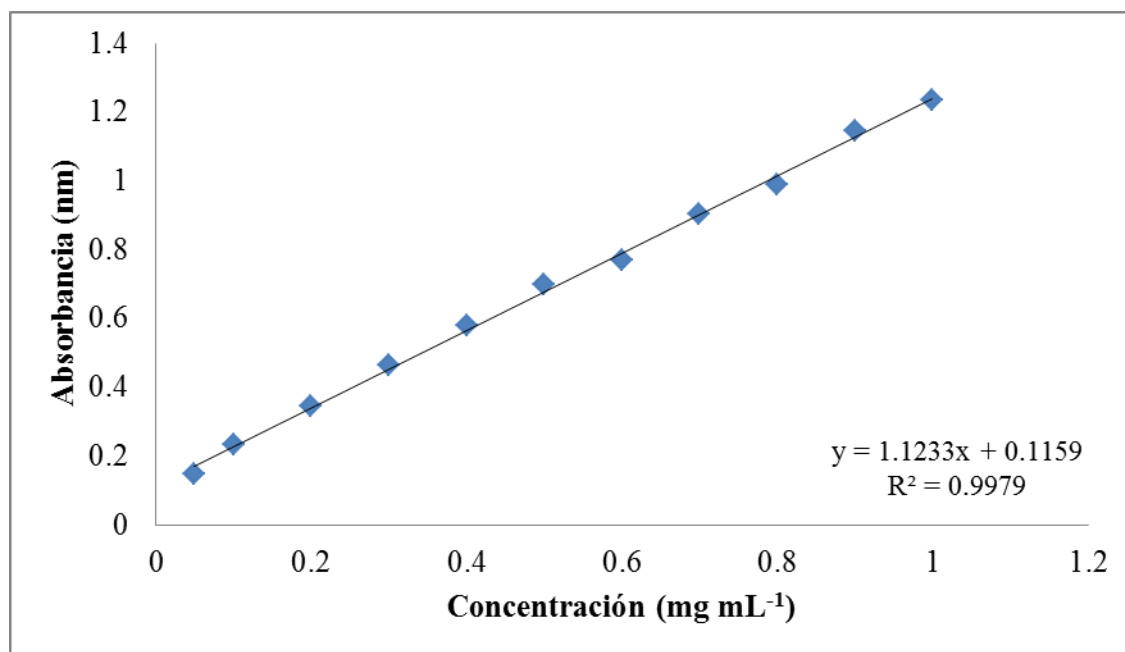
### Anexo 5. Contenido de proteínas (Técnica según Bradford 1976)

A 20 µL del sobrenadante del extracto enzimático se adicionó 1 mL de reactivo de Bradford, se mezcló mecánicamente evitando el contacto con la luz y la solución se tornó de color azul. Se midió la absorbancia a 595 nm. Las absorbancias de las muestras se interpolaron con la curva estándar preparada con diferentes concentraciones de una solución de albúmina bovina para calcular la concentración de proteínas.

Reactivo de Brandford: Disolver 100 mg azul de cromassie en 50 mL de etanol al 95%. Agregar 100 mL de ácido fosfórico al 85% (w/v) y aforar a 1000 mL con agua destilada. La concentración final del reactivo es de 0.01% (w/v) de azul de cromassie, 4.7% (w/v) de etanol y 8.5% (w/v) de ácido fosfórico. El reactivo debe tener un color negro, desechar si el reactivo se torna de color azul.

**Tabla 3A.** Curva de calibración de albúmina sérica bovina para determinación de proteínas.

Concentración mg/mL	mL de la solución madre	mL agua destilada	Volumen de aforo (mL)	Volumen muestra (mL)	Reactivo Bradford (mL)	Abs Curva 1	Abs Curva 2	Abs Curva 3	Promedio	DE
0.05	0.25	4.75	5	20	1	0.148	0.142	0.153	0.1477	0.0055
0.1	0.5	4.5	5	20	1	0.234	0.238	0.231	0.2343	0.0035
0.2	1	4	5	20	1	0.342	0.344	0.346	0.3440	0.002
0.3	1.5	3.5	5	20	1	0.462	0.463	0.464	0.4630	0.001
0.4	2	3	5	20	1	0.576	0.579	0.58	0.5783	0.0020
0.5	2.5	2.5	5	20	1	0.698	0.696	0.701	0.6983	0.0025
0.6	3	2	5	20	1	0.773	0.768	0.77	0.7703	0.0025
0.7	3.5	1.5	5	20	1	0.905	0.91	0.901	0.9053	0.0045
0.8	4	1	5	20	1	0.978	0.999	0.989	0.9887	0.0105
0.9	4.5	0.5	5	20	1	1.145	1.143	1.148	1.1453	0.0025
1	5	0	5	20	1	1.233	1.245	1.225	1.2333	0.0100

**Fig. 2A** Curva de calibración de albúmina sérica bovina.**Anexo 6. Peroxidación lipídica (Lipox)** (método de Buege y Aust 1978).

Se tomaron 0.5 mL del sobrenadante y 1 mL de buffer Tris-HCl pH 7.4. Se calentaron las muestras en baño de agua a 37°C durante 30 minutos, posteriormente agregaron 2 mL de TCA-TBA y se llevó a ebullición durante 40 min, las muestras se dejaron enfriar por 15

min y se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos. Se midió la absorbancia de las muestras a 535 nm.

Buffer Tris-HCl: se pesaron 0.3152 g de tri(hidroximetil)metilamina (trizma hydrochloride), se ajustó el pH a 7.4 y se aforó a 100 ml con agua destilada.

Reactivo TCA-TBA: se pesaron 0.127 g de ácido tiobarbitúrico, 4.0 g de ácido tricloroacético y 165 µL de HCl concentrado y se aforó a 25 mL con agua desionizada.

**Anexo 7. Superoxido dismutasa (SOD)** (método de Misra y Friedrich, 1972) con modificaciones.

Se tomó una alícuota de 500 µl del sobrenadante de extracto de enzimas y se adicionaron 4 mL de agua destilada. Las muestra se sonicaron durante 15 min y posteriormente se agregaron 2.5 ml de etanol/cloroformo 1:1, se agitaron en el vortex y se centrifugaron a 1500 rpm durante 15 min.

En celda de cuarzo agregaron 150 µl del homogenizado y se adicionó 750 µl se solución reguladora de carbonatos (Buffer SOD), inmediatamente se agregaron 600 µl de adrenalina, se agitó en el vortex y midió la absorbancia a una longitud de onda de 480 nm al tiempo inicial, a los 30 segundos y a los 5 minutos.

Solución reguladora de carbonatos (Buffer SOD): se pesaron 420 mg de bicarbonato de sodio y se aforo en 100 mL (50 mM). Por otro lado, se pesaron 530 mg de carbonato de sodio y se aforo en 100 mL (50 mM). A 17 mL de bicarbonato y 33 mL de carbonato de sodio, adicionar 50 µL de EDTA 0.1 mM (se pesaron 0.003725g y se aforó a 100 ml con agua destilada) y la solución se ajustó a pH 10.2 con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en polvo.

Solución de adrenalina: se pesaron 0.1371 g de adrenalina, se adicionaron 2 mL de agua destilada y se aforó a 25 mL con ácido acético al 0.05%.

**Anexo 8. Catalasa (CAT)** (método de Hernández 2005).

Se tomaron 500 µL del sobrenadante del extracto de enzimas y se adicionaron 4 ml de PBS. Se sonicó durante 15 minutos y posteriormente se centrifugó a 2000 rpm por 15 minutos. Se tomaron 20 µL del sobrenadante, se adicionó 1 mL de buffer de catalasa y 200 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. En el caso del blanco se colocó agua destilada en lugar de muestra.

Se agitó la muestra en el vortex e inmediatamente después se midió la absorbancia inicial y a los 60 segundos a una longitud de onda de 240 nm en celdas de cuarzo.

Reactivo PBS: pesar 8 g de NaCl, 200 mg de KCl, 2.16g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.24g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, aforar con agua destilada a 1000 mL.

Buffer de catalasa: 0.3 M de sucrosa, 1.0 mM de HEPES, 5 mM de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH ajustado a 7.4. Para 100 mL pesar 10.269 g de sucrosa, 26.029 mg de HEPES y 68 mg de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, ajustar el pH y aforar a 100 mL con agua destilada.

### **Anexo 9.** Bioensayo de toxicidad con semillas de *Lactuca sativa* L.

En cajas Petri de 9 cm de diámetro se colocó papel filtro con 4 mL de la solución a evaluar, control negativo (agua destilada) o el control positivo (ZnSO<sub>4</sub>), posteriormente se colocaron 20 semillas de *Lactuca sativa* L. Las cajas se mantuvieron en una incubadora a temperatura controlada de 22 ± 2°C, durante 120 h, de acuerdo a los protocolos estandarizados [229]. Las soluciones a evaluar fueron: electrolito soporte (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 M) sin tratamiento (SEWOT), electrolito soporte (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 M) con tratamiento (SEWT), solución de Thiodan® sin tratamiento (STWOT), solución de Thiodan® con tratamiento (STWT) y una mezcla de solución Thiodan® sin tratamiento + electrolito soporte con tratamiento (STWOT + SEWT), antes y después de ser expuestas con *Myriophyllum aquaticum* a concentraciones de 100, 50 y 25%. Después de 5 días, se calculó el % de índice de germinación (GI), así como el índice de crecimiento relativo (RGI) mediante las ecuaciones 2A y 3A.

$$GI (\%) = \frac{RLS \times GSS}{RLC \times GSC} \times 100 \quad (2A)$$

$$RGI = \frac{RLS}{RLC} \quad (3A)$$

donde RLS es la longitud de la radícula en las semillas en las soluciones prueba, RLC es la longitud de la radícula en las semillas del control, GSS es el número de semillas germinadas en las soluciones pruebas y GSC es el número de semillas germinadas en el control. El valor del RGI fue clasificado en tres categorías de acuerdo a los efectos tóxicos observados [230,231].

- 1) Inhibición de la elongación de la raíz (I):  $0 < x < 0.8$
- 2) No se observaron efectos significativos (NSE):  $0.8 \leq x \leq 1.2$
- 3) Estimulación de la elongación de la raíz (S):  $RGI \geq 1.2$

## Anexo 10 Constancias de asistencia a Congresos y Cursos

 **La Sociedad Mexicana de Electroquímica** 

Otorga el presente  
**Reconocimiento**  
a

**C. Rosales Landeros, C. E. Barrera Díaz, A. Amaya Chávez, G. Roa Morales**

Por su participación en el XXXI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Electroquímica y el 9th Meeting of the Mexican Section of the Electrochemical Society con el trabajo titulado:

**Electrooxidación de endosulfán en solución acuosa con electrodos de diamante dopados con boro.**

  
**Dr. Francisco Javier Rodríguez Gómez**  
Presidente  
Sociedad Mexicana de Electroquímica  
2015 - 2017

  
**Dra. Citlalli Gaona Tiburcio**  
Presidente  
Comité Organizador  
UANL

Monterrey, Nuevo León  
Mayo 30 a Junio 03 de 2016

 **El Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEM-UNAM** 

Otorga la presente constancia a:

***Claudia Rosales Landeros, Carlos Eduardo Barrera Díaz, Gabriela Roa Morales, Araceli Amaya Chávez***

Por su participación en el Simposio Interno 2015 con el cartel:

**"EVALUACION DE UN SISTEMA ACOPLADO DE ELECTROOXIDACIÓN-OZONACIÓN Y FITORREMEDIACIÓN EMPLEANDO *Myriophyllum aquaticum* PARA LA REMOCIÓN DE ENDOSULFÁN EN AGUA"**

que se llevó a cabo el día 22 de enero de 2016

  
**Dr. Bernardo Antonio Frontana Uribe**  
Coordinador de Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable  
UAEM-UNAM



Toluca, Estado de México el 22 de enero de 2016.

Carretera Toluca-Atlacomulco Km 14.5, Unidad San Cayetano, Toluca, Estado de México, 50200. Tel: (722) 2766610, Ext. 7602.  
E-mail: cciqs.coordnacion@hotmail.com



**IMCCRE2016**  
Querétaro, México, June 5-9, 2016

**The Organizing Committee of the**

**IMCCRE-2016**  
International-Mexican Congress on  
Chemical Reaction Engineering

**Certifies that**

**C. ROSALES, C. BARRERA-DÍAZ,  
A. AMAYA, G. ROA**

Contributed with the poster paper

**Evaluation of a Coupled System: Electrooxidation-ozonation for  
the Removal of Endosulfan in Water**

  
**DR. JORGE ANCHEYTA**  
CHAIRMAN







El Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable  
UAEM-UNAM



Otorga la presente

# Constancia

a: *Claudia Rosales Landeros*

Por su asistencia y participación en el 2° taller: *Fundamentos e Interpretación de Espectrometría de Masas*, llevado a cabo del 1 al 29 de Octubre de 2015 en las instalaciones del CCIQS UAEM-UNAM, con una duración de 18 horas, en Toluca, Estado de México.

M. en A. P. Guadalupe O. Santamaría González  
Directora de la Facultad de Química, UAEM

Dr. Jorge Peón Peralta  
Director del Instituto de Química, UNAM

Dr. Bernardo Antonio Frontana Uribe  
Coordinador del CCIQS UAEM-UNAM

M. en C. Lizbeth Triana Cruz  
Instructora del taller, CCIQS UAEM-UNAM





Equipos para Diagnóstico  
Analítico, S.A. de C.V.  
**EDIA SA**



**MODERNWATER**

Otorga la presente

**CONSTANCIA**

de asistencia al SEMINARIO EN

**Bioensayo de Toxicidad *Vibrio fischeri*  
& MICROTOX**

a

M.C. CLAUDIA ROSALES LANDEROS

Realizado en el Hotel Sevilla Palace en la Ciudad de México, los días 7 y 8 de diciembre del año en curso, impartido por Natalia Rodríguez, Cary Morris y el Ing. Jorge Cassaigne Mendoza

Naucalpan de Juárez, Edo. De México a 8 de diciembre del 2017

Natalia Rodríguez  
Ventas América Latina  
Modern Water, Inc.

Cary Morris  
Ingeniería de Aplicaciones  
Modern Water, Inc.

Ing. Jorge Cassaigne  
Dirección  
Equipos para Diagnóstico  
Analítico, S.A. de C.V.